

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“ENFERMEDADES FUNGOSAS EN SEMILLAS DE
Phaseolus vulgaris L., ECOTIPOS HUASCA POROTO,
ALLPA Y PAJATINO EN SAN MARTÍN”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:
EDITH MORI PAIMA**

**TARAPOTO – PERÚ
2016**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA
ÁREA DE MEJORAMIENTO Y PROTECCIÓN DE CULTIVOS

TESIS

**“ENFERMEDADES FUNGOSAS EN SEMILLAS DE
Phaseolus vulgaris L., ECOTIPOS HUASCA POROTO,
ALLPA Y PAJATINO EN SAN MARTÍN”**

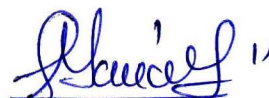
**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:
EDITH MORI PAIMA**

COMITÉ DE TESIS



.....
Dr. Winston Franz Ríos Ruíz
PRESIDENTE



.....
Ing. M.Sc. Patricia Elena García Gonzáles
SECRETARIO



.....
Ing. María Emilia Ruíz Sánchez
MIEMBRO



.....
Ing. Eybis José Flores García
ASESOR

TARAPOTO – PERÚ
2016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTIN - TARAPOTO

Unidad de Bibliotecas Especializada y Biblioteca Central

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN NO EXCLUSIVO PARA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA EN REPOSITORIO DIGITAL

1. DATOS PERSONALES

Apellidos y Nombres: EDITH MORI PAIMA		DNI : 45204830
Domicilio: Jr. Vista Alegre N° 325 – Tarapoto		
Teléfono 942938724	Correo Electrónico edithmori_88@hotmail.com	

2. DATOS ACADÉMICOS

Facultad	: CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Académico Profesional : AGRONOMÍA	

3. DATOS DE LA TESIS

Título: “ENFERMEDADES FUNGOSAS EN SEMILLAS DE <i>Phaseolus vulgaris</i> L., ECOTIPOS HUASCA POROTO, ALLPA Y PAJATINO EN SAN MARTÍN”
Año de Publicación 2016

4. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN VERSIÓN ELECTRÓNICA

A través de la presente autorizo a la Unidad de Bibliotecas Especializadas y Biblioteca Central – UNSM – T, para que publique, conserve y sin modificarla su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en su Repositorio Institucional su obra a texto completo el citado título (Resolución Rectoral N° 212-2013-UNSM/CU-R).


EDITH MORI PAIMA
DNI 450204830

Fecha de recepción: ____/____/____

DEDICATORIA

A DIOS, creador de mi intelecto
y dador de fortaleza en los
duros momentos.

A mis queridos padres WALTER y DEYSI,
quienes con sacrificio, amor, aliento y
apoyo incondicional hicieron posible la
culminación de mi carrera profesional.

A mi hermana, sobrina y a toda
mi familia que hoy comparten
conmigo esta gran dicha.

AGRADECIMIENTO

A todos aquellos que a través del largo camino al éxito depositaron su confianza en mí, impulsándome a continuar día a día hasta completar el reto.

Mi reconocimiento y gratitud al Ing. Agrónomo Eybis José Flores García, Docente Asociado a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín; asesor de la presente tesis, por abrirme sus puertas permitiéndome el desempeño de cada una de las labores necesarias y quién con su ejemplo y dedicación motivaron cada uno de mis pasos.

En especial a toda mi familia, por mantenerse junto a mí en la lucha, y a quienes debo mi perseverancia en el estudio pues con su apoyo y esfuerzo lograron incentivar lo que hoy cosecho.

A todos, muchas gracias...

CONTENIDO

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
3.1. Importancia de los frejoles en la región San Martín	3
3.2. Análisis patológico de semillas.	3
3.3. Enfermedades transmitidas por semillas.	4
3.4. Hongos de campo presentes en la semilla de frejol.	4
3.4.1. Antracnosis.	6
3.4.2. Marchitez por <i>Rhizoctonia solani</i> .	7
3.4.3. Marchitez por <i>Fusarium solani</i> .	8
3.4.4. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .	9
3.5. Control de hongos transmitidos por semillas.	10
3.6. Tipos de fungicidas.	10
3.6.1. Fungicidas protectantes.	10
3.6.2. Fungicidas sistémicos.	11
3.7. Efecto de los fungicidas en patógenos de semillas.	12
3.7.1. Efecto de fungicidas en <i>Plukenetia volubilis</i> (Sacha Inchi).	12
3.7.2. Efecto de fungicidas en <i>Zea mays</i> (Maíz).	12
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	14
4.1. Ubicación del experimento.	14
4.2. Metodología.	14
4.2.1. Recolección de las semillas.	14
4.2.2. Muestreo de las semillas.	14
4.2.3. Distribución de las semillas.	15
a) Observación directa.	15
b) Selección y limpieza.	16
c) Desinfestación (Descontaminación) de las semillas.	16
4.2.4. Preparación de la cámara húmeda.	17

4.2.5. Preparación del medio de cultivo PDA.	17
4.2.6. Aislamientos de hongos de las semillas de frejol.	18
4.2.7. Identificación.	19
4.2.8. Prueba de patogenicidad.	19
4.2.9. Reaislamiento.	20
4.2.10. Control químico <i>in vitro</i> con fungicidas en el laboratorio.	20
4.3. Variables evaluadas.	21
4.3.1. Síntomas.	21
4.3.2. Características morfológicas del patógeno.	21
4.3.3. Características biométricas.	21
• Medición lineal de la colonia y tiempo de colonización.	21
• Medición de la estructura del patógeno.	22
4.3.4. Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> de la prueba de patogenicidad.	22
4.3.5. Incidencia <i>in vitro</i> de enfermedades en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	23
4.3.6. Porcentaje de emergencia en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	23
V. RESULTADOS	24
5.1. Síntomas.	24
5.2. Incidencia de enfermedades fungosas de las pruebas en cámara húmeda.	26
5.3. Características de los hongos aislados de semillas de los ecotipos estudiados.	27
5.3.1. Colonización.	30
5.4. Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> , ecotipo huasca poroto huallaguino de la prueba de patogenicidad.	30
5.5. Incidencia <i>in vitro</i> de enfermedades en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	32
5.6. Porcentaje de emergencia de semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	38

VI.	DISCUSIÓN	40
6.1.	Síntomas, características morfológicas y biométricas de los patógenos encontrados.	40
6.2.	Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> , ecotipo huasca poroto huallaguino de la prueba de patogenicidad.	44
6.3.	Incidencia <i>in vitro</i> de enfermedades en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	45
6.4.	Porcentaje de emergencia en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	49
VII.	CONCLUSIONES	50
VIII.	RECOMENDACIONES	51
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
	ANEXOS	

Índice de Cuadros

	Página
Cuadro 1: Fungicidas químicos y dosis en estudio.	20
Cuadro 2: Escala de evaluación del grado de severidad de enfermedades en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> .	22
Cuadro 3: Síntomas de los patógenos encontrados en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> .	24
Cuadro 4: Síntomas de los patógenos encontrados en semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> . (Continuación).	25
Cuadro 5: Incidencia de enfermedades fungosas en semillas de frejol por ecotipo y lugares recolectados (Cámara Húmeda).	26
Cuadro 6: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2%.	27
Cuadro 7: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2% (Continuación).	28
Cuadro 8: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2% (Continuación).	29
Cuadro 9: Tipo y tiempo de colonización.	30
Cuadro 10: Incidencia y severidad de la prueba de patogenicidad de los hongos estudiados inoculados en semillas y sembrados en suelo esterilizado.	31
Cuadro 11: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .	32
Cuadro 12: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Rhizoctonia solani</i> .	33
Cuadro13: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Fusarium solani</i> .	35
Cuadro14: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .	36
Cuadro15: Efecto de los fungicidas en los cuatro hongos aislados de semilla de <i>Phaseolus vulgaris</i> .	38
Cuadro16: Escala de clasificación del efecto de fungicidas.	38

Índice de Figuras

	Página
Figura 1: Mapa de distribución de las localidades donde se colectaron las semillas en la Región San Martín-Perú.	15
Figura 2: Semillas de frejol huasca poroto huallaguino.	16
Figura 3: Semillas de frejol allpa.	16
Figura 4: Semillas de frejol pajatino.	16
Figura 5: Secado de semillas.	16
Figura 6: Humedeciendo las semillas.	17
Figura 7: Esterilización de medio de cultivo PDA 2%.	18
Figura 8: Medio de cultivo PDA 2% glucosado.	18
Figura 9: Siembra de las semillas de frejol en placas de Petri con medio PDA.	18
Figura 10: Medición de la colonia.	21

Índice de Gráficos

	Página
Gráfico 1: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> .	32
Gráfico 2: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Rhizoctonia solani</i> .	34
Gráfico 3: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Fusarium solani</i> .	35
Gráfico 4: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico <i>in vitro</i> de <i>Colletotrichum lindemuthianum</i> .	37
Gráfico 5: Porcentaje de emergencia de semillas de <i>Phaseolus vulgaris</i> con tratamiento fungicida.	39

RESUMEN

Las semillas de *Phaseolus vulgaris* L., ecotipos: Huasca poroto Huallaguino, Allpa y Pajatino en la región San Martín son afectados por diversos hongos que ocasionan la pudrición y diseminación entre localidades. Con el objetivo de determinar los agentes causales de las enfermedades fungosas presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris*, se colectaron semillas de ocho localidades: San Roque de Cumbaza, Acaloma, San Antonio de Cumbaza, San José de Sisa, Juan Guerra, Tingo de Ponaza, Saposoa y Juanjui, los cuales fueron trasladados al Laboratorio de Sanidad Vegetal donde se realizó la descripción de síntomas, aislamientos, caracterización, prueba de patogenicidad y prueba del control químico *in vitro* con fungicidas utilizando el diseño completo al azar con 7 tratamientos (cinco fungicidas y dos testigos) y 4 repeticiones. Los resultados determinaron que: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspegillus flavus* y *Penicillium* sp son hongos que producen pudriciones de semillas en *Phaseolus vulgaris* en los ecotipos estudiados y según la prueba de patogeneidad: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum* se diseminan por semillas en la región San Martín. De acuerdo a la escala de clasificación, los fungicidas Tolclofos Methil + Thiram (2g/kg), Propineb (3g/kg), Mancozeb (3g/kg) y Metalaxil + Mancozeb (2,5g/kg) controlaron de forma Muy Bueno a Bueno a los hongos *Lasiodiplodia theobromae* y *Rhizoctonia solani*, y el fungicida Tolclofos Methil + Thiram (2g/kg) controló de forma Buena al hongo *Fusarium solani*.

Palabras claves: Enfermedades, frejol, hongos, semillas, fungicidas y pudrición.

ABSTRACT

The seeds of *Phaseolus vulgaris* L; ecotypes: Huasca poroto Huallaguino; Allpa and Pajatino in the región San Martín are affected for different mushrooms that cause the putrescence and dissemination between locations. With the objective of determine the agents casual of the diseases fungus present in seeds of *Phaseolus vulgaris*, is collected seeds of eight locations: San Roque de Cumbaza, Aucaloma, San Antonio de Cumbaza, San José de Sisa, Juan Guerra, Tingo de Ponaza, Saposoa and Juanjui, the which were transferred the laboratory of sanitation vegetable where is perform the description of symptoms, isolation, characterization, proof of pathogenicity and proof of control chemical *in vitro* with fungicide using the design complete to random with seven processing (five fungicide and two witnesses) and four repetitions. The results determined that: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspegillus flavus* y *Penicillium* sp are mushrooms that produce putrescence of seeds in *Phaseolus vulgaris* in the ecotypes studied and according the proof of pathogenicity: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum* is spread for seeds in the región San Martín. Of according to the scale of qualification, the fungicide Tolclofos Methil + Thiram (2g/kg), Propineb (3g/kg), Mancozeb (3g/kg) y Metalaxil + Mancozeb (2,5g/kg) controlled of form Very Good to Good to the mushrooms *Lasiodiplodia theobromae* and *Rhizoctonia solani*, and the fungicide Tolclofos Methil + Thiram (2g/kg) controlled the form Good to mushrooms *Fusariun solani*.

Keywords: Diseases, bean, mushrooms, seeds, fungicides and putrescence.

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- **INTECO.**- Instituto Nacional de Tecnologías de la Comunicación – España.
- **I.E.**- Institución Educativa
- **TIC.**-Tecnologías de la Información y la Comunicación.
- **NTICs.**- Nuevas Tecnologías de la Información y Comunicación.
- **Top ten.**- Los 10 primeros.
- **On line.**- en línea, en internet.
- **Facebook .**- Red social de internet.
- **MySpace.**- Red social de internet.
- **Hi5.**- Red social de internet.
- **Sonico.**- Red social de internet.
- **Flickr.**- Red social de internet.
- **Social network .**- red social.
- **GE.**- grupo experimental
- **GC.**- grupo control.
- **PEA.**- Proceso de enseñanza aprendizaje.

I. INTRODUCCIÓN

El frejol común (*Phaseolus vulgaris* L.) es la especie más importante para el consumo humano entre las leguminosas de grano por su alto contenido proteico, aproximadamente 20% y minerales esenciales (Cruz *et al*, 2009), siendo un producto clave en la seguridad alimentaria desde el punto de vista nutricional (Voysest, 2000). Su producción abarca áreas muy diversas, cultivándose prácticamente en todo el mundo; América Latina es el mayor productor y consumidor con más del 45% de la producción mundial (Arias *et al*, 2007).

El frejol en la selva peruana constituye una fuente económica y alimenticia, específicamente en las regiones de San Martín, Loreto y Ucayali donde se cultivan la especie *Phaseolus vulgaris* de los ecotipos “Huasca Poroto Huallaguino y Ucayalino, Allpa, Ahuisho y Pajatino”; en los mercados locales se comercializa en fresco con cáscara, llegando a costar el saco de 30 kg aproximadamente 50 soles y en granos secos varían de 4 a 12 soles el kg.

Los granos que se utilizan como semillas son medios de diseminación de las enfermedades fungosas, bacterianas y virales, induciendo a muchos agricultores a utilizar diversidad de fungicidas, lo cual representa incrementos en los costos de producción y contaminación ambiental (Santana & Mahuku, 2002), porque en la actualidad no se cuenta con semilla certificada; esta problemática se convierte en motivo de estudio, con el objetivo de determinar las enfermedades fungosas en semillas de tres ecotipos de *Phaseolus vulgaris* como el Huasca Poroto Huallaguino, Allpa y Pajatino, así como evaluar el efecto de fungicidas químicos que controlen las enfermedades identificadas.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General.

Determinar los agentes causales de las enfermedades fungosas presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris* en los ecotipos Huasca Poroto Huallaguino, Allpa y Pajatino en la Región San Martín.

2.2. Objetivos Específicos.

2.2.1. Identificar los agentes causales de las enfermedades fungosas presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris* en los ecotipos Huasca Poroto Huallaguino, Allpa y Pajatino en la Región San Martín.

2.2.2. Evaluar el efecto de fungicidas químicos sobre los agentes causales de las enfermedades fungosas presentes en semillas de *Phaseolus vulgaris* en la Región San Martín.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Importancia de los frejoles en la región San Martín.

Los pobladores de la región San Martín consumen diversas especies de menestras tanto locales como de otras regiones del Perú, por otra parte el Programa Nacional de Asistencia Alimentaria – PRONAA (2011) Zonal Tarapoto, compraba aproximadamente 300 t.año⁻¹ de diferentes especies, prevaleciendo *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris*, *Cajanus cajan*, *Pisum sativum* y otros para cubrir las necesidades de familias en extrema pobreza. Actualmente los gobiernos provinciales compran frejoles para el programa PANTBC de los establecimientos de salud (Micro Red Centro de Salud Morales, 2016).

3.2. Análisis patológico de semillas.

Los métodos para el análisis patológico de las semillas según Richardson citado por Ainsworth (1991) corresponden a cuatro grupos generales: (1) Observación directa, (2) Incubación y determinación de la presencia de síntomas o signos (desarrollo superficial del posible agente patológico), (3) Siembra en medios de cultivos sólidos de modo de asistir e identificar el posible patógeno presente en la semilla, (4) Se puede someter a un análisis serológico empleando diversos procedimientos, por ejemplo ELISA.

Algunos patógenos se pueden detectar por varios métodos, sin embargo los resultados generalmente difieren en términos cuantitativos. El método a seleccionar dependerá del hospedero, del tiempo que demore el análisis, de la sensibilidad y confiabilidad de los resultados. Al realizar análisis

con propósitos cuarentenarios, se debería seleccionar el procedimiento más sensible.

3.3. Enfermedades transmitidas por semillas.

Los frejoles sufren pérdidas grandes mundialmente, y una de las razones principales es la prevalencia de enfermedades transmitidas por las semillas (Jara, 2006 y CIAT, 1987). Más de la mitad de todas las enfermedades mayores del frejol pueden ser transmitidas por la semilla; éstas incluyen la antracnosis, las pudriciones radicales y de los tallos, los marchitamientos bacterianos, los añublos por bacteria y varios virus.

Las semillas certificadas y libres de enfermedades son muy difíciles de obtener en Latinoamérica y forman menos del tres por ciento de la semilla de frejol sembrada, esto mismo ocurre en Perú. Varios géneros de hongos han sido citados afectando a la semilla, siendo los más importantes: *Phomopsis* spp, *Colletotrichum* spp, *Cercospora* spp, *Peronospora* spp, *Alternaria* spp, *Fusarium* spp, *Sclerotinia* spp, *Macrophomina* spp, *Rhizoctonia* spp y *Septoria* spp (Vallone *et al*, 2002).

3.4. Hongos de campo presentes en la semilla de frejol.

La semilla se convierte en el principal medio de dispersión de enfermedades a grandes distancias, incluyendo países y continentes. Hongos causantes de antracnosis como la del frejol (*Glomerella lindemuthiana*) se dispersan principalmente por semilla, por lo que el uso de semilla de calidad puede conducir a la ausencia de esta enfermedad, aunque la variedad sea genéticamente susceptible (Villalobos y Hernández, 2007). De los cultivos

alimenticios de importancia económica, el frejol es probablemente uno de los más afectados por enfermedades e insectos; en la mayoría de las áreas productoras, estos dos factores constituyen la principal causa de reducción del rendimiento. Se han descrito más de 200 patógenos que afectan al frejol, muchos de ellos con la capacidad de atacar durante todo el ciclo del cultivo y; además, capaces de ser transmitidos y sobrevivir en las semillas (Araya, 2000).

Las principales enfermedades que afectan al frejol son causados por bacterias, hongos, virus y nemátodos (Danilo, 2009 y Araya, 2000), y el complejo de enfermedades que con más frecuencia reduce los rendimientos del frejol en clima frío son el virus del mosaico común, la roya, la antracnosis, la mancha foliar angular, las pudriciones radicales y los añublos bacterianos (Díaz, 2002). La incidencia y la severidad depende de las épocas de siembra de *Phaseolus vulgaris* en la región San Martín (enero – febrero para zonas altas no inundables y de mayo – junio en zonas altas y suelos inundables); fuera del método de evitación la enfermedad se incrementa.

Pachón y Castaño-Zapata (1999) al analizar semillas almacenadas de frejol y maíz observaron seis géneros de hongos; el hongo más frecuente en semillas de frejol fue *Aspergillus* P. Mich. Ex Link: Fr., siendo más frecuente en semillas provenientes de un almacén agrícola con incidencia del 11%, seguido por las semillas de frejol de un centro comercial (7%) y plaza de mercados (3%). En maíz, *Fusarium* Link: Fr. fue el más común en esta última fuente con incidencia del 12%, en menor frecuencia se detectó *Rhizopus* (Ehrenb.) y *Penicillium* Link: Fr. Membreño *et al* (2001) también identificaron

seis hongos en semillas de frejol, registrando: *Rhizoctonia solani*, *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Aspergillus flavus* Link: Fr., *Rhizopus nigricans* Ehrenb. y *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich.

3.4.1. Antracnosis.

Esta enfermedad ataca en todo el mundo a las variedades susceptibles establecidas en localidades con temperaturas moderadas a frías y con alta humedad relativa ambiental (Atilio y Reyes, 2008); los síntomas producidos por la infección ocasionada por la antracnosis pueden aparecer en cualquier parte de la planta según el momento de la infección y la fuente de inóculo, la semilla infectada y los residuos de cosecha son las fuentes primarias de inóculo que originan las epidemias locales y los primeros síntomas pueden, en efecto, aparecer en los cotiledones como lesiones pequeñas de color café oscuro a negro y es causado por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum*, este organismo produce micelio septado y ramificado, cuyo color cambia desde hialino hasta casi negro al alcanzar la madurez (CIAT, 1994), sus conidios son hialinas con setas oscuras.

Las temperaturas moderadas entre 13°C y 26°C, con una óptima de 17°C y la alta humedad relativa (mayor de 92%) o ambiental favorecen la infección ocasionada por el hongo *Colletotrichum lindemuthianum* y las temperaturas mayores de 30°C limitan la infección y el desarrollo del patógeno (Madigan *et al*, 2000).

La producción de semilla libre del patógeno se emplea en muchas partes para controlar la enfermedad; se recomienda hacer rotación de cultivos

de dos o tres años y eliminar los residuos infectados de los campos del cultivo. Se recomienda también la aspersión foliar de maneb, zineb y captafol, también con benomyl (0,5 g/l de agua), propineb (3 g/l de agua) y en semillas con benomyl (2 a 8 g/kg de semilla) reduce significativamente la infección por antracnosis (Tamayo y Londoño, 2001).

3.4.2. Marchitez por *Rhizoctonia solani*.

Las pudriciones radicales causadas por *Rhizoctonia solani* constituyen un problema serio en regiones donde las siembras son de riego; en estado de plántula causan pudrición o ahogamiento de las mismas, se caracteriza por una pudrición del cuello de la raíz donde se observan lesiones hundidas o chancros que invaden la porción del hipocotíleo y las raíces; la forma de las lesiones varía de circular a oblonga. Los suelos con temperaturas de 18°C favorecen el desarrollo del hongo (Latorre, 2004). En medio PDA la colonia es de borde liso, de color marrón claro, micelio de marrón a verde violáceo (Sandoval, 2008).

El hongo crece en temperaturas de 23°C a 28°C, aunque algunas cepas logran su óptimo crecimiento en temperaturas inferiores o superiores, y requiere pH de 5 a 7. El patógeno penetra a través de la cutícula y epidermis en forma mecánica, inicialmente produce un apresorio de infección a partir del cual emite hifas de infección o mediante hifas individuales, además puede penetrar por las aberturas naturales o las heridas (Stack, 2001). El patógeno puede diseminarse por medio del agua de riego, por el viento que arrastra esclerocios, así como por medio de la semilla (Martínez *et al*, 2008). El mismo autor menciona que la enfermedad se puede reducir sembrando a menor

profundidad, ya que la semilla cuando se siembra a la profundidad de 7,5 cm es mayor el daño del hipocotíleo que cuando se siembra a 2,5 cm. También se indica que al tratar la semilla con fungicidas se reduce la incidencia del patógeno.

3.4.3. Marchitez por *Fusarium solani*.

Araya y Hernández (2006) y Martínez *et al* (2008) indican que la reducción en la emergencia de plantas puede alcanzar el 15%, y las pérdidas en rendimiento varían entre 10% y 50%; en el campo se observan plantas pequeñas y marchitas, con las hojas inferiores amarillentas distribuidas en focos, causa maduración temprana de la planta y las raíces presentan color café rojizo a café oscuro. En un corte se observa el tejido interno de color café o rojizo oscuro. La base del tallo se puede cubrir con una felpa de color anaranjado claro o rosado.

La planta es atacada en la segunda o tercera semana después de la siembra, pero los síntomas se observan cerca de la floración o el llenado de vainas; es frecuente en zonas húmedas y cálidas (20°C-28°C), con suelos arcillosos o mal drenados; las siembras continuas de frejol favorecen la presencia de la enfermedad y el hongo sobrevive en los restos de siembras anteriores (Latorre, 2004).

En medio PDA, presenta colonia de borde liso de color blanco sucio a crema, con conidióforos largos y septados, conidias unicelulares y multicelulares de forma falcada de 10-30 micras de longitud y 1,25-2,5 micras de diámetro (Sandoval, 2008). Para el manejo integrado usar semilla sana o

certificada, evitar altas densidades de siembra y suelos con mucha humedad o mal drenados; rotar con maíz, pastos, sorgo por más de tres años. Tratar la semilla con fungicidas como benomyl, carboxin, Penta Cloro Nitro Benceno (PCNB), thiram. (Tamayo y Londoño, 2001).

3.4.4. *Lasiodiplodia theobromae*.

Hongo que produce la enfermedad conocida como podredumbre del cuello, pertenece al grupo Botryosphaeriadeae, afecta *Arachis hypogaea* en ramas y frutos, *Gossypium hirsutum* en semillas, *Phaseolus vulgaris* en flores, hojas, planta entera, raíces y semilla botánica, y por último a *Vitis vinífera* en frutos, hojas y tronco (Alcoba *et al*, 2005).

Las colonias son grises a negro, con abundante micelio aéreo. Picnidios son simple o compuesto, estromático, ostiolado, hasta 5 mm de ancho. Los conidióforos son hialinos, simples, a veces septadas, rara vez ramificada cilíndrica, que surgen de las capas internas de las células que recubren la cavidad de los picnidios. Los conidios son inicialmente unicelulares, hialinos, granulosa, subovoide a elipsoide-oblongas, de paredes gruesas, truncado de base; conidios maduro septadas, a menudo longitudinalmente estriado, 20-30 micras x 10-15 micras (Lucero *et al*, 2009).

Se ha logrado con éxito el control eficaz de varios hongos como *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporoides*, *Fusarium* spp, *Macrophomina phaseolina*, *Pestalotia* sp, *Phoma* sp y *Phomopsis* sp en las semillas de *Acacia auriculiformis*, *Albizzia* spp, *Gmelina arborea*, *Leucaena leucocephala*, diversas especies de *Pinus*, *Pithecelobium dulce*, *Pterocarpus*

indicus, *Cedrella odorata* y *Grevillea robusta*, estos resultados se obtuvieron de manera exitosa mediante el uso combinado de benomyl (0,15%) y mancozeb (0,15%) (Tovar *et al*, 2013; Aroca *et al*, 2008).

3.5. Control de hongos transmitidos por semillas.

CIAT (1987) refiere que muchos hongos son transmitidos sobre o dentro del tegumento de la semilla y los tratamientos con los fungicidas convencionales como arasan (thiram) y captan (orthocide) sirven para controlarlos. Otros como la antracnosis se encuentran más profundamente dentro de la semilla y generalmente no son afectados por los tratamientos de semillas. Los fungicidas sistémicos como el benlate (benomyl) son promisorios en estos casos.

Las aplicaciones foliares de los fungicidas sistémicos durante la última parte de la estación de crecimiento han reducido significativamente la incidencia de transmisión de la antracnosis en la semilla cosechada, pero son costosos. Las cosechas tardías y el contacto de la vaina con el suelo durante el crecimiento pueden aumentar los problemas de las enfermedades llevadas por las semillas.

3.6. Tipos de fungicidas.

3.6.1. Fungicidas protectantes.

Los fungicidas de protección no controlan los patógenos que están dentro de las semillas (Adrianzen, 1996), sólo protegen la parte externa de las mismas y a las plántulas contra enfermedades causadas por hongos presentes dentro de las semillas y provenientes del suelo tales como: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium* (FAO, 2000).

Es esencial que los fungicidas protectantes estén sobre las hojas de plántulas o impregnados en la semilla antes de la siembra, este fungicida no es fácilmente lavado después de terminado de secar (Adrianzen, 1996). Algunos ejemplos de fungicidas protectantes que se encuentran en el mercado son captan, thiram, quintozene y tolylfluanid (Adrianzen, 1996 y FAO, 2000).

El modo de acción de estos fungicidas generalmente es de multisitio, un proceso bajo control multigénico, es decir, que actúan en diferentes procesos metabólicos vitales para la vida del hongo, por lo que la probabilidad de obtener resistencia del hongo a estos fungicidas es bastante baja. En general, los fungicidas protectantes afectan el metabolismo de las proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía/ATP y bloquean la enzima deshidrogenasa (Yaringaño, 1985).

3.6.2. Fungicidas sistémicos.

Estos fungicidas son específicos, tienen propiedades terapéuticas y efecto prolongado ya que penetran en las hojas y pueden movilizarse a otros tejidos dentro de la misma hoja o hacia otras partes de la planta (Apablaza, 1997), los ingredientes activos penetran en la planta, traslocándose desde el sistema radicular hasta las hojas, proporcionando una protección a la planta (FAO, 2000), generalmente actúa en un solo paso en la fisiología del patógeno (monositio), lo que incrementa la posibilidad de generar resistencia del hongo a estos fungicidas y en la actualidad se cuenta con 4 familias químicas: benzimidazoles, triazoles, pirimidinas y recientemente las estrobirulinas (Apablaza, 1997).

3.7. Efecto de los fungicidas en patógenos de semillas.

3.7.1. Efecto de fungicidas en *Plukenetia volubilis* (Sacha Inchi).

Los fungicidas que tuvieron excelentes resultados para el control de hongos en semillas de *Plukenetia volubilis* L. (Sandoval, 2008) fueron:

- Methiram, Tiofanate metil + Thiram, Metalaxil + Mancozeb y Mancozeb para los hongos *Rhizoctonia solani*, *Scytalidium dimidiata*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Rosellinia* sp y *Fusarium solani*.
- Metalaxil + Mancozeb, Tebuconazole y Benomyl para los hongos *Rhizoctonia solani* y *Rosellinia* sp.
- Flutolanil + Captan para los hongos *Scytalidium dimidiata*, *Lasiodiplodia theobromae* y *Rosellinia* sp.

3.7.2. Efecto de fungicidas en *Zea mays* (Maíz).

Los fungicidas que tuvieron excelentes resultados para el control de hongos en semillas de *Zea mays* L. (Díaz, 2005) fueron:

- Triadiminol para el hongo *Diplodia maydis*.
- Tiofanate metil + Thiram, Mancozeb y Mancozeb + Benomyl para los hongos *Rhizoctonia solani*, *Diplodia maydis*, *Curvularia intermedia*, *Fusarium oxysporum* y *Fusarium moniliforme*.
- Propineb, Benomyl y Flutolanil + Captan para los hongos *Rhizoctonia solani* y *Diplodia maydis*.
- Propineb, Triadiminol y Flutolanil + Captan para el hongo *Curvularia intermedia*.
- Benomyl, Triadiminol y Flutolanil + Captan para los hongos *Fusarium oxysporum* y *Fusarium moniliforme*.

Además concluye con respecto a los efectos de los fungicidas sobre la emergencia, que los tratamientos que presentaron un menor porcentaje con respecto a los fungicidas antes mencionados fueron el Propineb (77,4%) y el testigo (77,44%), debido a la presencia de hongos en las semillas.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del experimento.

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Sanidad Vegetal-Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín; cuya ubicación política se encuentra en el distrito de Morales, provincia y departamento de San Martín, la ubicación geográfica está en la Latitud Sur 06°29'40", Longitud Oeste 76°27'55", Altitud 295 m.s.n.m.m. y zona de vida bosque seco tropical.

4.2. Metodología.

4.2.1. Recolección de las semillas.

Se recolectó semillas de frejoles de campos de agricultores en los distritos de Juan Guerra, San José de Sisa, Tingo de Ponaza, San Roque de Cumbaza, San Antonio de Cumbaza, y del Centro Poblado Menor Aucaloma perteneciente al distrito de San Roque de Cumbaza; así como del mercado central de los distritos de Juanjui y Saposoá (ver Figura 1). Por cada lugar se colectó un kilogramo de semilla de cada ecotipo. Cabe mencionar que las semillas no tenían tratamiento por ser para el consumo.

4.2.2. Muestreo de las semillas.

Las semillas adquiridas de los ecotipos Huasca Poroto Huallaguino, Allpa y Pajatino por cada lugar de colecta fueron divididas en dos muestras, una muestra para los análisis en el presente trabajo de investigación, el cual se dividió en 4 sub muestras de 100 g y otra muestra de semilla fue separada como reserva.

b) Selección y limpieza.

De las cuatro (4) sub muestras de 100 g de semillas, se separó en dos grupos: las semillas aparentemente sanas (SAS) y las semillas enfermas (SE) que presentaban síntomas como manchas oscuras, arrugadas y mal formadas. De las semillas aparentemente sanas se separaron en dos (2) sub grupos: a) semillas aparentemente sanas sin desinfestar (SASSD), y b) semillas aparentemente sanas desinfestadas (SASD), siendo este último grupo de mayor importancia para este trabajo, por tener posiblemente el patógeno dentro de la semilla. Estas fueron puestas en cámaras húmedas de plástico transparente de 270*170*60 mm.



Figura 2: Semillas de frejol huasca poroto huallaguino. Foto E. Mori.



Figura 3: Semillas de frejol allpa. Foto E. Mori.



Figura 4: Semillas de frejol pajatino. Foto E. Mori.

c) Desinfestación (Descontaminación) de las semillas.

Las SASD se colocaron en bandejas de plástico de 70 mm en la base y 120 mm en la parte superior conteniendo hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos, pasado ese tiempo se enjuagó con agua destilada y finalmente se trasladó al papel toalla para el secado de las mismas.

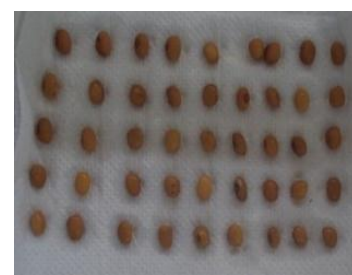


Figura 5: Secado de semillas. Foto E. Mori.

4.2.4. Preparación de la cámara húmeda.

Los envases de plástico transparente de 270 mm x 170 mm x 60 mm, previamente lavada y desinfectada con hipoclorito de sodio al 1 % y con alcohol de 96°, fueron acondicionados con papel toalla de color blanco, donde se colocó



Figura 6: Humedeciendo las semillas. Foto E. Mori.

las 100 semillas desinfectadas, ordenada en fila paralela por cada envase y luego humedecemos el papel toalla con agua destilada esterilizada para luego proceder a taparlos para dar condiciones favorables en el proceso de incubación de los hongos durante 7 días.

4.2.5. Preparación del medio de cultivo PDA.

Para la preparación del medio de cultivo se pesó 200 g de papa sin pelar, cortamos en cubos de 1 cm³, colocándolos en un vaso de policarbonato de capacidad 1000 ml, adicionando 500 ml de agua, luego se colocó en horno microondas donde estuvo en cocción durante 15 minutos. En otro vaso de policarbonato se colocó 18 g de agar agar en tiras con 500 ml de agua, se disolvió en 10 minutos. Luego se filtró el caldo de papa a través del tamiz 60 mesh (mallas por pulgada).

El caldo de la papa se mezcló con el agar diluido a 100°C y al cual se adicionó 20 g de glucosa (dextrosa), se agregó agua hasta completar a 1000 ml. El medio PDA al 2% glucosado, se distribuyó con un embudo de plástico a razón de 100 ml en botellas de vidrio de capacidad de 295 ml, sellamos con tapa de algodón y luego con tapa de papel periódico; obteniéndose 10 botellas por litro de PDA.

Las botellas con PDA al 2% glucosado se colocaron en el autoclave para la esterilizaron a calor húmedo a 121°C, 15 lb/cm³ (una libra) de presión durante 20 minutos; luego se dejó enfriar hasta que la aguja del manómetro marque cero; se abrió la tapa del autoclave y se retiró las botellas con el medio de cultivo esterilizada como se muestra en las figuras 7 y 8.



Figura 7: Esterilización de medio de cultivo PDA 2%. Foto E. Mori.



Figura 8: Medio de cultivo PDA 2% glucosado. Foto E. Mori.



Se dejó enfriar hasta punto de plaqueo (50°C) y se distribuyó el medio de cultivo previa adición de 50 mg del antibiótico cloranfenicol en placas de Petri, solidificado el medio se incubó por 24 horas.

4.2.6. Aislamientos de hongos de las semillas de frejol.

Utilizando una pinza curvo, se extrajo las semillas que presentaban micelio u otras estructuras fúngicas de las cámaras húmedas y fueron sembradas en el PDA al 2 % glucosado, se selló, etiquetó e incubó.

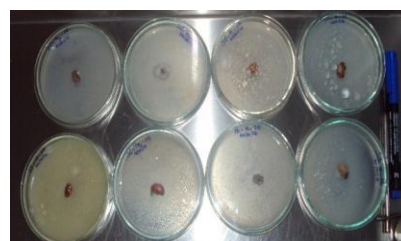


Figura 9: Siembra de las semillas de frejol en placas de Petri con medio PDA. Foto E. Mori.

Las placas de Petri sembradas pasaron por un periodo de incubación bajo las condiciones ambientales entre 24°C - 30°C del laboratorio, a medida que se desarrollaban los hongos se hizo reaislamiento para purificarlos. Una vez desarrolladas las estructuras, utilizando un sacabocado se trasladaron las rodajas de 8 mm de diámetro conteniendo el medio de cultivo con la estructura del hongo a otra placa de Petri conteniendo PDA al 2 % y así obtener el cultivo del hongo puro.

4.2.7. Identificación.

Después del aislamiento y repique respectivo, con la ayuda del microscopio compuesto se procedió a la descripción morfológica y biométrica de las estructuras vegetativas, propagativas, reproductivas y de conservación de los hongos aislados y con las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972), Ellis (1971 y 1976), Tousson y Nelson (1968), Hanlin (1990), Campos (1991) se procedió a la identificación.

4.2.8. Prueba de patogenicidad.

En esta etapa se procedió a inocular los hongos puros previamente cultivados y aislados en placas de Petri sobre las semillas de frejol desinfestadas con hipoclorito de sodio al 1% por periodo de 2 minutos; la inoculación consistió en sumergir las semillas en 10 ml de una solución en agua destilada estéril conteniendo $1,3 \times 10^6$ esporas del hongo durante 24 horas, para luego ser sembradas en 20 placas de Petri a razón de 10 semillas por placa conteniendo suelo esterilizado (en autoclave a 130 °C por un lapso de 2 horas). Para el caso de *Rhizoctonia* se inocularon estructuras vegetativas (trozos de micelio).

4.2.9. Reaislamiento.

Las semillas y/o plántulas que presentaban los síntomas de infección causados por el hongo inoculado en la semilla fueron lavadas y cortadas en pequeños trocitos de 2 a 3 mm, esterilizadas en hipoclorito de sodio al 1%, secada, sembrada y aislado en cultivo puro; con esto procedimos de nuevo al examen microscópico de las características morfológicas y luego se comparó con las descripciones de los aislamientos iniciales.

4.2.10. Control químico *in vitro* con fungicidas en el laboratorio.

Una vez obtenido los patógenos puros sobre el medio de cultivo (PDA) se procedió a preparar el inóculo, que consistió en remover todo el medio con el hongo de la placa de Petri y colocarlo en otro envase de vidrio conteniendo 100 ml de agua destilada para luego mezclarlos y así extraer con una pipeta 2,5 ml de dicho inóculo, se agregó a cada placa de Petri de los tratamientos en estudio, sembrando cuatro pruebas por tratamiento incluyendo al testigo y cuatro placas con semillas desinfestadas con lejía al 1% durante 2 minutos, que sirvió como testigo sin inoculación.

Cuadro 1: Fungicidas químicos y dosis en estudio

TRAT.	NOMBRE TÉCNICO	DOSIS 0/00 (g/kg de semilla)		TOXICIDAD	Tipo de Fungicida	Prueba
		P. c.	i. a.			
T1	Testigo (sin inoculación de hongo)	0,00	0,00	-----		4
T2	Testigo (con inoculación de hongo)	0,00	0,00	-----		4
T3	Tolclofos metil 30% + Thiram 30%	2,00	0,60+0,60	Ligeramente peligroso	Compuesto	4
T4	Propineb 70%	3,00	2,10	Ligeramente peligroso	Protectante	4
T5	Mancozeb 80%	3,00	2,40	Ligeramente peligroso	Protectante	4
T6	Metalaxil 4% + Mancozeb 64%	2,50	0,10+1,60	Ligeramente peligroso	Compuesto	4
T7	Benomyl 50%	0,75	0,38	Ligeramente peligroso	Sistémico	4

* P. c.: Producto comercial * i. a.: ingrediente activo.

4.3. Variables evaluadas.

4.3.1. Síntomas.

Se evaluó observando las semillas de cada ecotipo según su procedencia, luego del proceso de desinfestado y ser incubadas en cámara húmeda durante siete días, presentaron los primeros síntomas, determinando el porcentaje de incidencia utilizando la fórmula de Van der Plank (1975):

$$\text{Incidencia (i)} = (\text{N}^{\circ} \text{ de semillas infectadas} / \text{Total de semillas}) \times 100$$

4.3.2. Características morfológicas del patógeno.

Se realizó macroscópica y microscópicamente determinando la forma y color de la colonia, estructuras vegetativas, estructuras propagativas del hongo. Para el color de colonias se determinó en forma directa en la placa de Petri.

4.3.3. Características biométricas.

- **Medición lineal de la colonia y tiempo de colonización.**

Teniendo como punto de intersección el centro de la base de la placa de Petri, se procedió a medir el crecimiento del hongo cada 24 horas utilizando la regla graduada de 20 cm en las dos dimensiones d1 y d2 y luego dividimos para obtener el promedio de cada día, cesamos las mediciones cuando la colonia del hongo llenaba la placa de Petri.

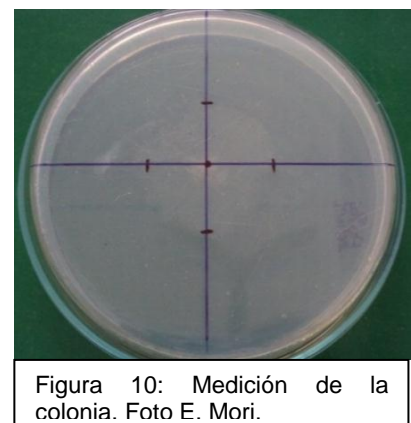


Figura 10: Medición de la colonia. Foto E. Mori.

Respecto al tiempo de colonización, se contaron los días desde la siembra del micelio hasta que el hongo haya cubierto por completo la placa de Petri con la colonia, momento en que cesamos la evaluación.

- **Medición de la estructura del patógeno.**

Con la ayuda de un estilete, se sacó una pequeña muestra del medio conteniendo el patógeno puro para luego ubicarlo en una lámina conteniendo una gota de lactofenol o azul de algodón (cotton blue) para poder distinguir las estructuras de los microorganismos aislados, después se tapó con la laminilla de vidrio, inmediatamente se calentó en la llama del mechero de alcohol para fijar la muestra.

Luego de analizar en el microscopio compuesto y con la ayuda de la escala micrométrica se midieron las estructuras de los microorganismos en estudio con un objetivo de 40x y un ocular de 16x.

4.3.4. Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de *Phaseolus vulgaris* de la prueba de patogenicidad.

Para determinar el porcentaje de incidencia se contó el número de semillas que presentaban síntomas de enfermedad, y el grado de severidad se determinó mediante escala denominando grado 0 como semilla sana hasta el grado 4 como semilla con más del 50% de daño, esto adaptado y modificado de Castaño-Zapata (1989) y CIAT (1987) citado por Delgado (2011) que se observa en el cuadro 2.

Cuadro 2: Escala de evaluación del grado de severidad de enfermedades en semillas de *Phaseolus vulgaris*.

Escala	Descripción
0	Semilla Sana
1	1% al 10% de daño en semilla.
2	11% al 25% de daño en semilla
3	25% al 50% de daño en semilla
4	Más del 50% de daño en semilla

4.3.5. Incidencia *in vitro* de enfermedades en semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

Se contó el número de plantas sanas emergidas de las placas de Petri con tratamiento fungicida y las que no lograron emerger y/o germinar, el cual se dividió por la población total de semillas sembradas para su expresión en porcentaje.

4.3.6. Porcentaje de emergencia en semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

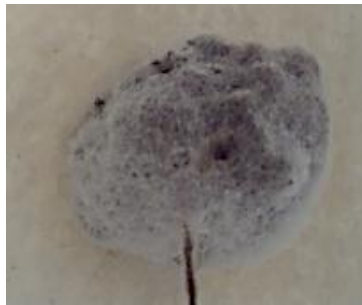


Para determinar si los fungicidas afectan el porcentaje de emergencia de las semillas se contabilizó el número de semillas emergidas, para lo cual se consideró cuando la radícula haya emergido y con una longitud 0,5 mm aproximadamente.

V. RESULTADOS

5.1. Síntomas.

En los cuadros 3 y 4 se presentan la descripción de los síntomas observados en semillas de *Phaseolus vulgaris* de los ecotipos huasca poroto huallaguino, pajatino y allpa.

Cuadro 3: Síntomas de los patógenos encontrados en semillas de *Phaseolus vulgaris*. Fotos E. Mori.

Agente Causante	Síntomas	Observación
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Pudrición oscura de semilla, en cámara húmeda presenta sobre la semilla micelio algodonoso de color gris oscuro.	
<i>Rhizoctonia solani</i>	Pudrición de la semilla, en cámara húmeda presenta sobre la semilla micelio algodonoso de color gris.	
<i>Fusarium solani</i>	Pudrición de semilla con micelio de color blanco a crema.	

Cuadro 4: Síntomas de los patógenos encontrados en semillas de *Phaseolus vulgaris*. Fotos E. Mori. (Continuación).

Agente Causante	Síntomas	Observación
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	La semilla infectada puede ser de menor tamaño, mostrar manchas que generalmente son pequeñas, semi-redondas y oscuras.	
<i>Fusarium oxysporum</i>	Pudrición de semilla con micelio blanco a violácea.	
<i>Aspergillus niger</i>	Pudriciones crema a marrón, en cámara húmeda presenta hifas en forma de alfiler con puntos negros o verdes.	
<i>Aspergillus flavus</i>		
<i>Penicillium</i> sp	Pudriciones crema, en cámara húmeda presenta hifas en forma de pelo de color gris a plomo.	

5.2. Incidencia de enfermedades fungosas de las pruebas en cámara húmeda.


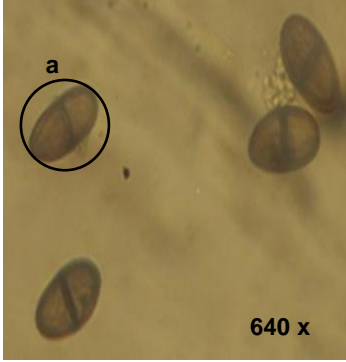
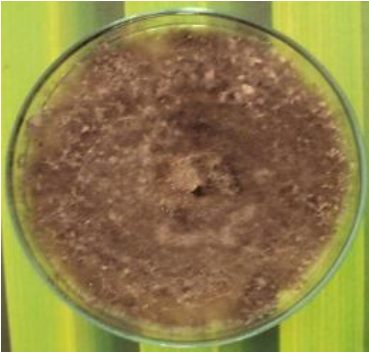
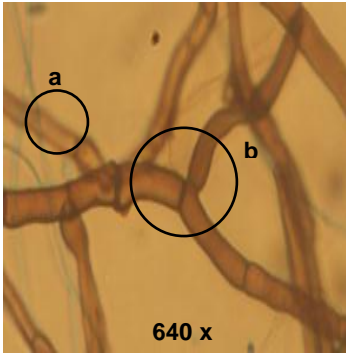

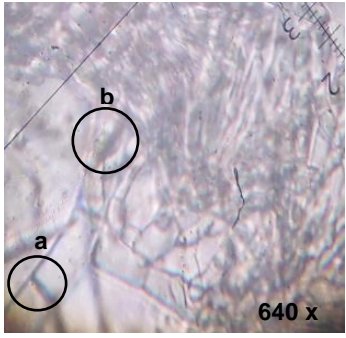
En el cuadro 5 se observa el porcentaje de incidencia de enfermedades fungosas en semillas de *Phaseolus vulgaris* de los ecotipos huasca poroto huallaguino, allpa y pajatino, en la cual se encontró que las semillas del ecotipo huasca poroto huallaguino fue el más susceptible al ataque de enfermedades fungosas en las semillas aparentemente sanas desinfestadas, siendo las localidades de San José de Sisa y Saposoa con mayor porcentaje registrado, con promedios de 17,25% y 10,5% respectivamente. Cabe destacar que el ecotipo pajatino solo reportó porcentaje de incidencia en las localidades de Aucaloma (8,5%) y Juan Guerra (3%).

Cuadro 5: Incidencia de enfermedades fungosas en semillas de frejol por ecotipo y lugares recolectados (Cámara Húmeda). Expresados en porcentaje.

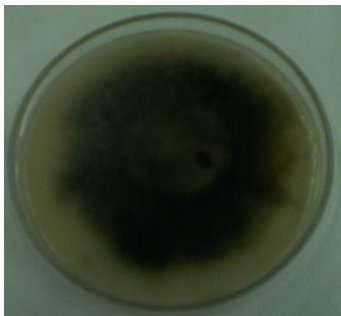
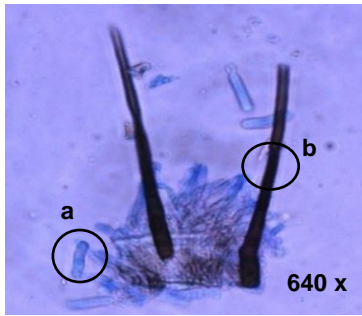
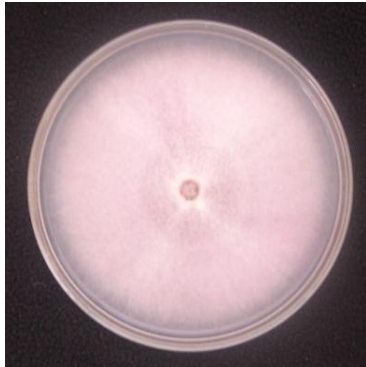
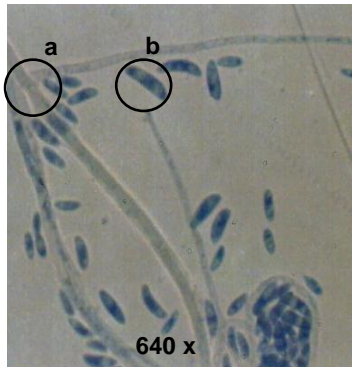

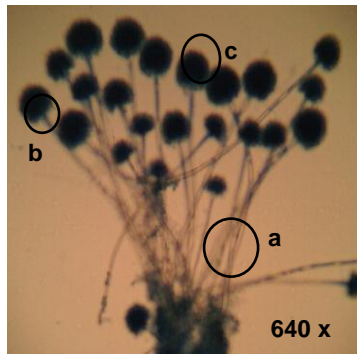
N°	Localidades	Incidencia de enfermedades de semillas en los ecotipos de frejoles		
		Huasca Poroto (%)	Allpa (%)	Pajatino (%)
1	San Roque de Cumbaza	4,75	1,75	-
2	Aucaloma	6,00	5,00	8,50
3	San Antonio de Cumbaza	4,00	8,00	-
4	San José de Sisa (El Porvenir)	17,25	8,50	-
5	Juan Guerra	2,00	1,00	3,00
6	Tingo de Ponaza	4,75	-	-
7	Saposoa	10,50	1,00	-
8	Juanjui (Villa Prado)	2,75	-	-

5.3. Características de los hongos aislados de semillas de los ecotipos estudiados.

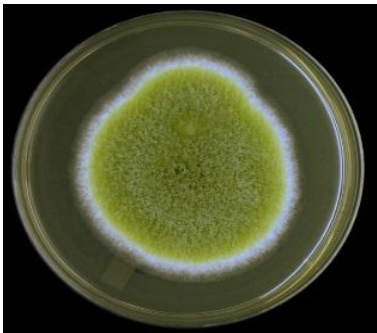
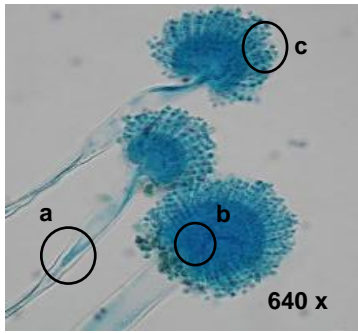
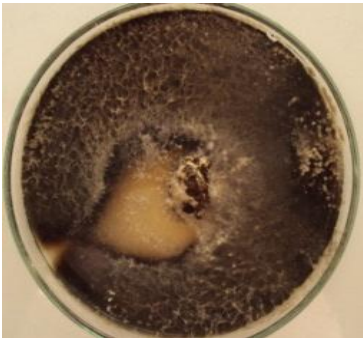
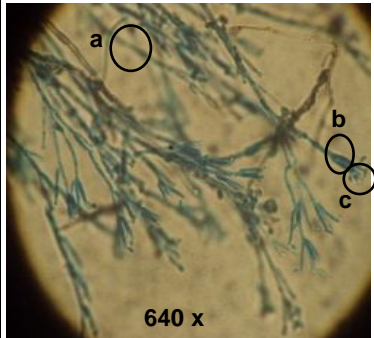
Cuadro 6: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2%. Fotos E. Mori y E. Flores.

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>		
Características morfológicas y biométricas	Colonia	(a) Conidio
<p>Colonia: blanco al inicio, al final color gris oscuro en la superficie y en el reverso color negro.</p> <p>Micelio: marrón a verde oliváceo, acorazonado en parte basal del micelio.</p> <p>Conidias: inmaduras, hialinas y oscuras, pared celular gruesa, con una septa bien engrosada, de color marrón oscuro, de 8 a 12 micras de diámetro y 20 a 22 micras de longitud.</p>		
<i>Rhizoctonia solani</i>		
Características morfológicas	Colonia	(a) Hifa y (b) Micelio
<p>Colonia: color marrón oscuro.</p> <p>Micelio: septado, ramificado en forma de T de color marrón oscuro a claro, carece de cuerpos de fructificación. Esclerotia marrón oscuro. No se observaron conidias, ni conidióforos.</p>		
<i>Fusarium solani</i>		
Características morfológicas y biométricas	Colonia	(a) Micelio y (b) Conidio
<p>Colonia: blanco a crema.</p> <p>Micelio: septado, hialino que sostiene fiálides. Esporodocio presente, con fialósporas.</p> <p>Conidióforo: largo, septado, hialino.</p> <p>Conidia: unicelular, bicelular y multicelular, forma de curvas a falcadas de 3 a 4 septas, de 12 a 31 micras de longitud y diámetro de 1,3 a 2,4 micras.</p>		

Cuadro 7: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2%. Fotos E. Mori y E. Flores. (Continuación).

<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>		
Características morfológicas	Colonia	(a) Conidio y (b) Seta
<p>Colonia: crema a oscuro, con setas.</p> <p>Conidias: unicelulares claras, rodeando las setas.</p>		
<i>Fusarium oxysporum</i>		
Características morfológicas y biométricas	Colonia	(a) Micelio y (b) Conidio
<p>Colonia: borde liso, de color blanco crema a violáceo.</p> <p>Micelio: hialino con septas uniphoro.</p> <p>Conidióforo: largo, septado, hialino, en la parte terminal presentan fiálides de donde salen las conidias (fialóspora).</p> <p>Conidia: unicelular, bicelular y multicelular, tiene la forma de ovoide a falcada de 7,4 a 13 micras de longitud y 7 a 12 micras de diámetro.</p>		
<i>Aspergillus niger</i>		
Características morfológicas y biométricas	Colonia	(a) Conidióforo, (b) Fiálide y (c) Fialospora
<p>Colonia: aterciopelada negro.</p> <p>Micelio: no septado hialino.</p> <p>Conidióforo: derecho, simple, con una terminación abultada globosa o clavada, produciendo fiálides con ápice radiado en la superficie entera.</p> <p>Conidia: fialóspora unicelular globosa, frecuentemente marrón oscuro en simples y circulares, con diámetro de 2,5 micras.</p>		

**Cuadro 8: Características morfológicas y biométricas de los microorganismos observados en Papa Dextrosa Agar-PDA al 2%.
Fotos E. Mori y E. Flores. (Continuación).**

<i>Aspergillus flavus</i>		
Características morfológicas	Colonia	(a) Conidióforo, (b) Fiálide y (c) Fialóspora
<p>Colonia: aterciopelada verde.</p> <p>Micelio: no septado hialino.</p> <p>Conidióforo: derecho, simple, con una terminación abultada globosa o clavada, produciendo fiálides con ápice radiado en la superficie entera.</p> <p>Conidia: fialóspora unicelular globosa, frecuentemente verde en simples.</p>		
<i>Penicillium sp</i>		
Características morfológicas	Colonia	(a) Conidióforo, (b) Fiálide y (c) Fialóspora
<p>Colonia: gris claro.</p> <p>Conidióforo: claro en la parte superior, con fiálides verticilada y sobre ellas fialósporas claras.</p>		

5.3.1. Colonización.

Cuadro 9: Tipo y tiempo de colonización.

Hongos	Tipo de colonia	Tiempo de colonización
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	Crecimiento radial	6 días
<i>Rhizoctonia solani</i>	Crecimiento radial	5 días
<i>Fusarium solani</i>	Crecimiento radial	6 días
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	Crecimiento radial	5 días
<i>Aspegillus niger</i>	Crecimiento radial en colonias pequeñas	4 días
<i>Aspergillus flavus</i>	Crecimiento radial en colonias pequeñas	4 días
<i>Penicillium</i> sp	Crecimiento radial	4 días

En el cuadro 9, se presentan los resultados del tiempo de colonización de los hongos identificados en las semillas de *Phaseolus vulgaris*, siendo el crecimiento de los hongos: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum* entre 5 y 6 días con crecimiento radial, este crecimiento también se observó en *Penicillium* sp; mientras que los hongos *Aspegillus niger* y *Aspergillus flavus* tienen crecimiento radial en colonias pequeñas, estos tres últimos hongos tuvieron crecimiento en 4 días.

5.4. Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de *Phaseolus vulgaris*, ecotipo huasca poroto huallaguino de la prueba de patogenicidad.

En el cuadro 10 se presenta los resultados de la evaluación, para ello se seleccionó sólo al ecotipo huasca poroto huallaguino para hacer la prueba de

patogenicidad por ser el que presentó mayores porcentajes de incidencia en todas las zonas donde se realizaron las colectas de las semillas de *Phaseolus vulgaris*, de esta prueba se determinó que los patógenos que causan mayor daño a las semillas de *Phaseolus vulgaris* fueron: *Lasiodiplodia theobromae* (100% incidencia y 45% de las semillas en grado 2), *Rhizoctonia solani* (100% incidencia y 42,5% de las semillas en grado 4), *Fusarium solani* (60% incidencia y 35% de las semillas en grado 1) y *Colletotrichum lindemuthianum* (82,5% incidencia y 50% de las semillas en grado 4).

Cuadro 10: Incidencia y severidad de la prueba de patogenicidad de los hongos estudiados inoculados en semillas y sembrados en suelo esterilizado.

Prueba de patogenia de hongos aislados de semilla de frejol	Incidencia	Grado de Severidad (%)				
	%	0	1	2	3	4
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	100,0	0	12,5	45,0	22,5	20,0
<i>Rhizoctonia solani</i>	100,0	0	7,5	27,5	22,5	42,5
<i>Fusarium solani</i>	60,0	40,0	35,0	25,0	0,0	0,0
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	82,5	17,5	22,5	2,5	7,5	50,0
<i>Fusarium oxysporum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aspegillus niger</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium</i> sp	0	0	0	0	0	0

5.5. Incidencia *in vitro* de enfermedades en semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

Cuadro 11: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae*. Expresados en porcentaje.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
Tratamientos	6	4359,33	726,56	43,99	<0.0001	**
Error	21	346,84	16,52			
TOTAL	27	4706,18				

**.: Altamente significativo

$R^2 = 92,63 \%$

C.V.= 14,67 %

$\bar{x} = 27,71 \%$

El análisis de varianza en el cuadro 11, nos indica que existe diferencia altamente significativa entre los diferentes tratamientos aplicados para reducir el porcentaje de incidencia de *Lasiodiplodia theobromae* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, determinado al 92,63% con variabilidad de 14,67% y variación de más, menos 4,06%.

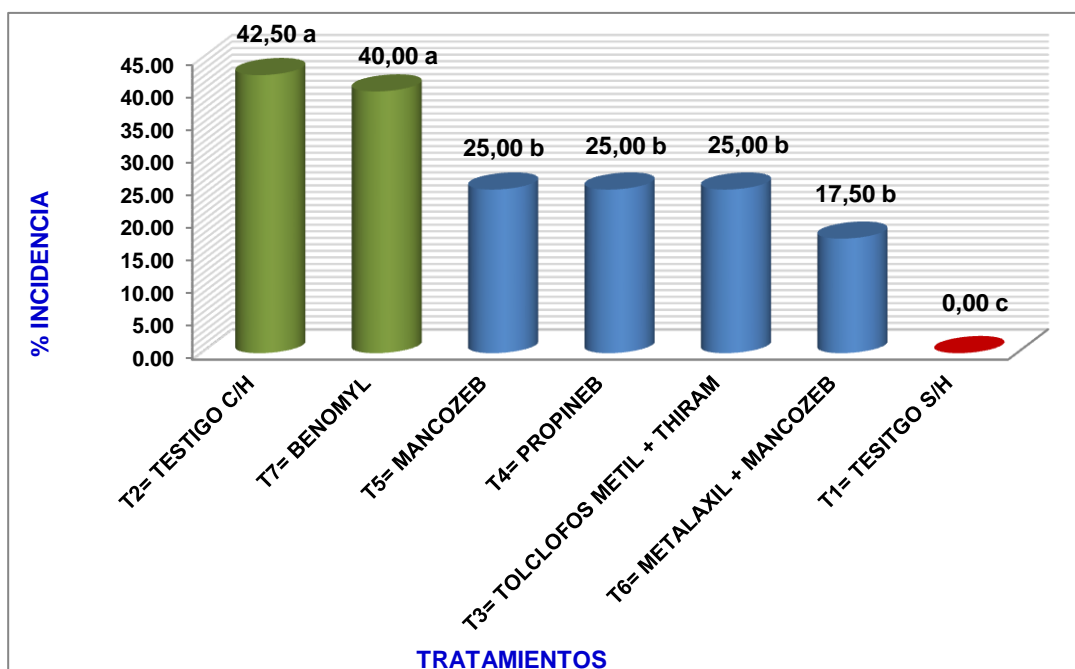


Gráfico 1: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae*. Expresados en porcentaje.

En el gráfico 1, de la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5%, nos muestra para el porcentaje de incidencia de *Lasiodiplodia theobromae* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, que el T1 (Testigo sin inoculación de hongos) ha tenido promedio de 0% en incidencia, mientras que con los tratamientos fungicidas se ha logrado los siguientes resultados promedios: T6: Metalaxil + Mancozeb con 17,50%, T3: Tolclofos metil + Thiram, T4: Propineb y T5: Mancozeb, con promedios de 25% respectivamente, siendo estos tratamientos estadísticamente iguales superando al T7: Benomyl y T2: Testigo con inoculación de hongos.

Cuadro 12: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Rhizoctonia solani*. Expresados en porcentaje.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
Tratamientos	6	5619,33	936,55	34,06	<0.0001	**
Error	21	577,53	27,50			
TOTAL	27	6196,85				

** : Altamente significativo

R²= 90,68 %

C.V.= 20,42 %

\bar{x} = 25,69 %

En el cuadro 12 del análisis de varianza del porcentaje de incidencia de *Rhizoctonia solani* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, nos muestra que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos estudiados, corroborado por el coeficiente de determinación de 90,68%, y el coeficiente de variabilidad de 20,42%, este último nos indica que entre las repeticiones, las unidades experimentales tuvieron variaciones marcadas en la incidencia. Por otro lado la variación que existe entre los promedios de los tratamientos es de más, menos 5,24%.

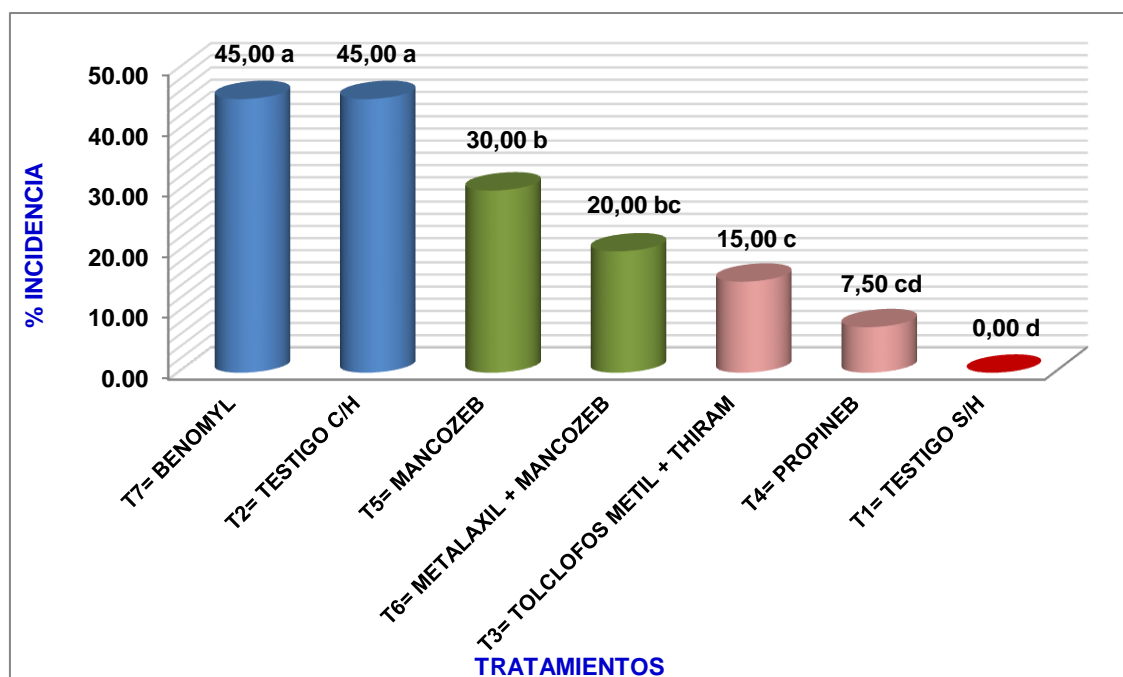


Gráfico 2: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Rhizoctonia solani*. Expresados en porcentaje.

En el gráfico 2 de la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5% para la incidencia de *Rhizoctonia solani* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, nos muestra que el tratamiento químico con mayor efecto sobre la reducción de la incidencia de este patógeno fue el T4: Propineb con promedio de 7,5% superando a los demás tratamientos. También se aprecia que el tratamiento T7: Benomyl obtuvo el mismo promedio que el Testigo con inoculación de hongos (T2), siendo de 45% de incidencia, el cual nos muestra que este ingrediente activo no permite el control contra *Rhizoctonia solani* en semillas de huasca poroto huallaguino.

Cuadro 13: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Fusarium solani*. Expresados en porcentaje.

<i>F. de V.</i>	<i>G.L.</i>	<i>S.C.</i>	<i>C.M.E.</i>	<i>F-Valor</i>	<i>Pr > F</i>	<i>Signific.</i>
Tratamientos	6	6605,50	1100,92	80,89	<0.0001	**
Error	21	285,79	13,61			
TOTAL	27	6891,29				

**.: Altamente significativo

$R^2 = 95,85 \%$

$C.V. = 10,56 \%$

$\bar{x} = 34,93 \%$

En el cuadro 13 del análisis de varianza para la incidencia de *Fusarium solani* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, indica que el efecto de los tratamientos es altamente significativo, el cual es corroborado por el coeficiente de determinación que indica 95,85%, el coeficiente de variación de 10,56% y la variación de más, menos del 3,69 %.

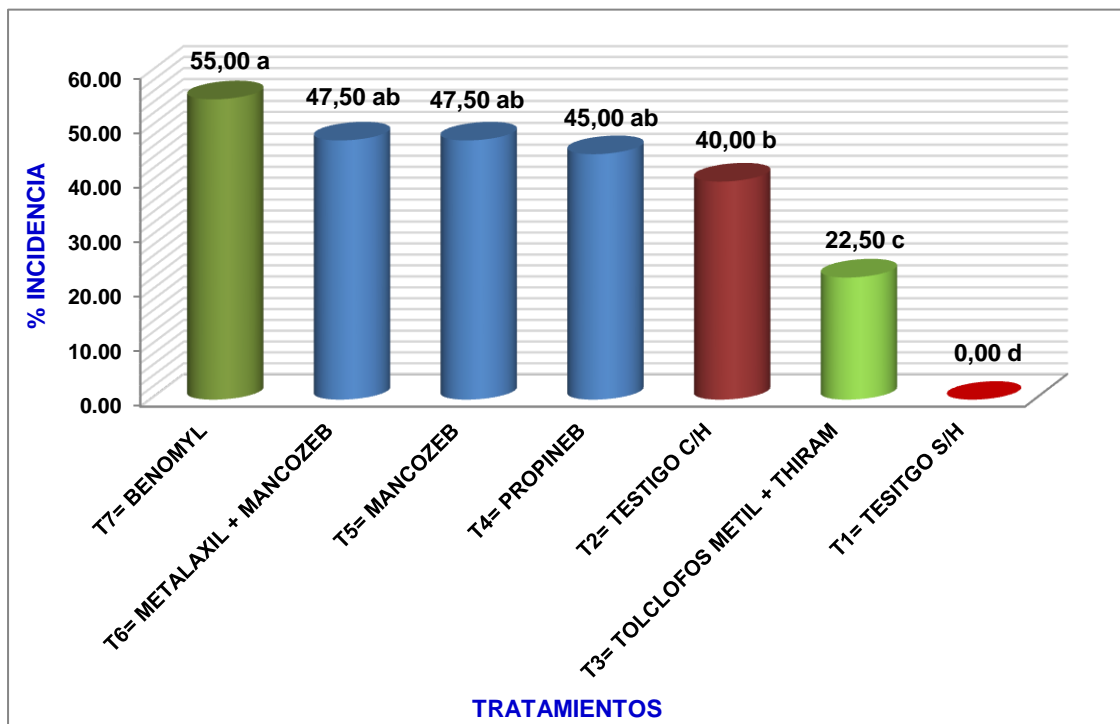


Gráfico 3: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Fusarium solani*. Expresados en porcentaje.

En el gráfico 3 de la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5% para la incidencia de *Fusarium solani* en semillas de huasca poroto huallaguino tratadas con fungicidas nos muestra que, el T1: Testigo sin inoculación de hongos no presentó incidencia de *Fusarium solani*. En cuanto a los fungicidas aplicados, el que obtuvo menor promedio de incidencia fue el tratamiento T3: Tolclofos metil + Thiram con promedio de 22,5% de incidencia, siendo éste el fungicida con efecto positivo para el control de *Fusarium solani* superando a los demás tratamientos.

Cuadro 14: ANVA para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Colletotrichum lindemuthianum*. Expresados en porcentaje.

F. de V.	G.L.	S.C.	C.M.E.	F-Valor	Pr > F	Signific.
Tratamientos	6	6152,60	1025,43	87,35	<0.0001	**
Error	21	246,52	11,74			
TOTAL	27	6399,12				

** : Altamente significativo

R²= 96,15 % C.V.= 9,67 % \bar{x} = 35,44 %

En el cuadro 14 del análisis de varianza para el porcentaje de incidencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, nos indica que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos utilizados para el control químico de dicho hongo, el cual se demuestra ya que existe 96,15% de confiabilidad, es decir efecto de tratamientos. En cuanto al coeficiente de variabilidad, éste fue de 9,67%, acercándose a la homogeneidad de las unidades experimentales según cada tratamiento.

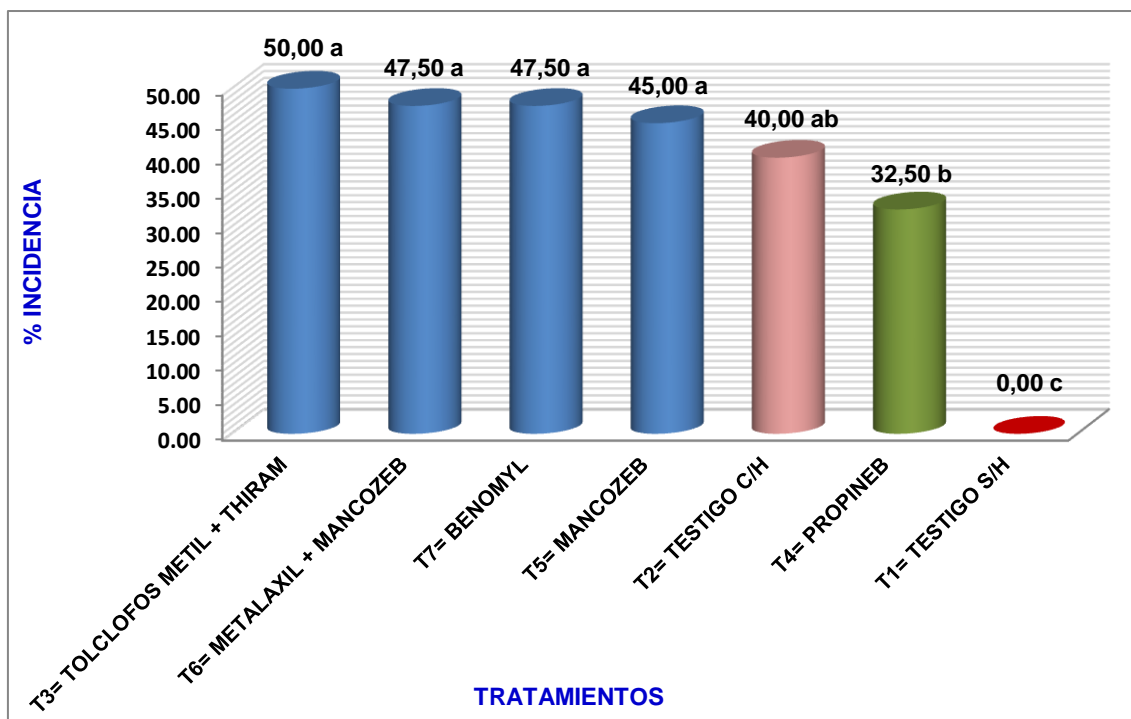


Gráfico 4: Prueba de Duncan (0,05) para la incidencia de enfermedades en el control químico *in vitro* de *Colletotrichum lindemuthianum*. Expresados en porcentaje.

En el gráfico 4 de la prueba de rangos múltiples de Duncan al 5% para la incidencia de *Colletotrichum lindemuthianum* en semillas de *Phaseolus vulgaris* ecotipo huasca poroto huallaguino, nos indica que el tratamiento T4: Propineb tuvo promedio de incidencia de 32,5% siendo el más bajo que los demás tratamientos, pero no supera al T1: Testigo sin inoculación de hongos, el cual obtuvo 0% de incidencia. Los tratamientos T3, T6, T7 y T5 fueron estadísticamente iguales mostrando promedios de 50%, 47,5%, 47,5% y 45% respectivamente superando al Testigo con inoculación de hongos (T2).

Cuadro 15: Efecto de los fungicidas en los cuatro hongos aislados de semilla de *Phaseolus vulgaris*.

Hongos	Fungicidas				
	1	2	3	4	5
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	B	B	B	B	R
<i>Fusarium solani</i>	B	R	R	R	R
<i>Rhizoctonia solani</i>	B	MB	B	B	R
<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	R	R	R	R	R

Fungicidas: 1) Tolclofos metil + Thiram, 2) Propineb, 3) Mancozeb,
4) Metalaxil + Mancozeb, 5) Benomyl.

Cuadro 16: Escala de clasificación del efecto de fungicidas. Expresados en porcentaje.

Rango	Denominación	Abreviatura
0	Excelente	E
1-10%	Muy Bueno	MB
10-30%	Bueno	B
30-60%	Regular	R
60-90%	Malo	M

5.6. Porcentaje de emergencia de semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

El gráfico 5 nos muestra que los tratamientos con fungicidas químicos aplicados para el control de los hongos *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Colletotrichum lindemuthianum* que permitieron mejorar la emergencia de semillas de *Phaseolus vulgaris* del

ecotipo huasca poroto huallaguino fueron: Propineb (77,5%), Tolclofos metil + Thiram (76,25%) y Metalaxil + Mancozeb (71,88%), siendo las medias superiores al 70% con respecto al tratamiento Testigo con inoculación de hongos (63,13%). El fungicida Benomyl disminuyó el porcentaje de emergencia de las semillas teniendo promedio de 52,50%.

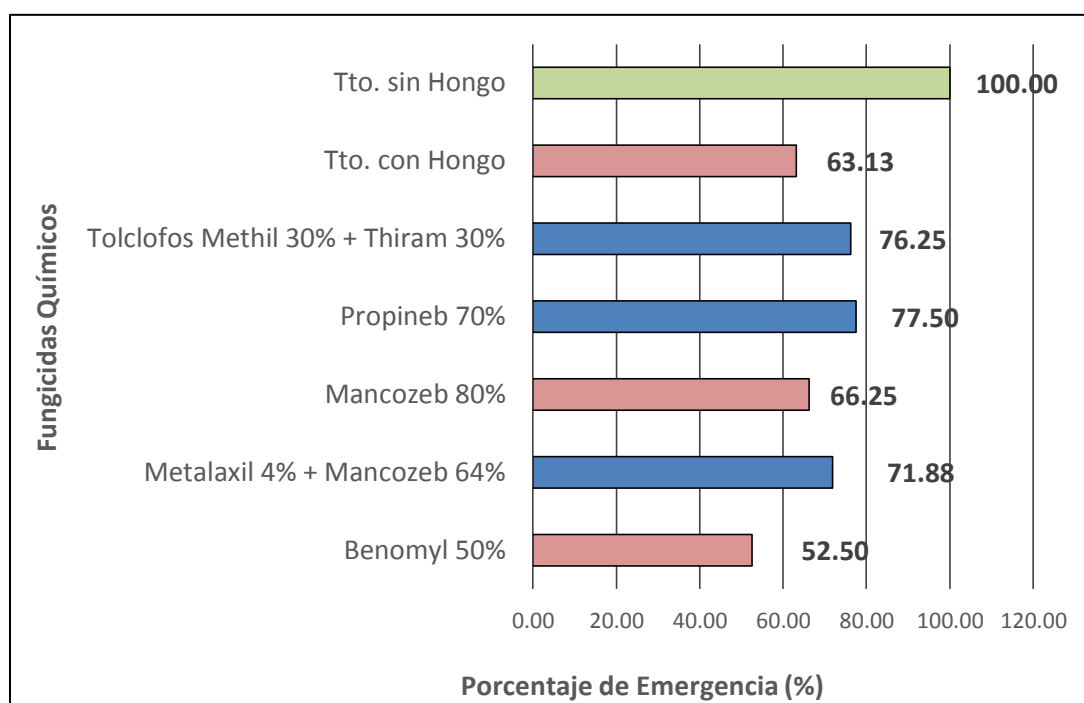


Gráfico 5: Porcentaje de emergencia de semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

VI. DISCUSIÓN

6.1. Síntomas, características morfológicas y biométricas de los patógenos encontrados.

Los síntomas observados bajo la metodología de incubación y determinación (cámara húmeda) descrita por Ainsworth (1991) en nuestro trabajo de investigación fue una alternativa para las determinaciones preliminares de semillas infestadas e infectadas de diferentes localidades de nuestra región; donde se observaron presencia de micelios y esporas de hongos en las semillas de *Phaseolus vulgaris* aparentemente sanas después de 7 días de incubación con alta humedad y temperaturas normales del ambiente del laboratorio (20 – 32°C). Los resultados están descritos en los cuadros 3 y 4, que pertenecen a los patógenos encontrados como *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp. Estos resultados son corroborados por Jara (2006) y CIAT (1987) cuando mencionan que los frejoles sufren de enfermedades transmitidas por semillas tales como la antracnosis, las pudriciones radicales y de los tallos.

Así mismo tiene relación con los hongos *Colletotrichum* spp, *Fusarium* spp, *Rhizoctonia* spp descritos por Vallone *et al* (2002); pero no se han encontrado *Phomopsis* spp, *Cercospora* spp, *Peronospora* spp, *Alternaria* spp, *Sclerotinia* spp, *Macrophomina* spp y *Septoria* también descritos por el mismo autor en las semillas estudiadas de nuestra región San Martín. También tiene relación con Villalobos y Hernández (2007) en cuanto a *Glomerella lindemuthianum*, ya que *Colletotrichum lindemuthianum* es fase

anamorfo (asexual) de este hongo y que se encontró en las semillas evaluadas.

La pudrición de semilla de frejol causado por los hongos del género *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* tienen relación con los estudios de Pachón y Castaño-Zapata (1999) y Membreño *et al* (2001). Del mismo modo con *Rhizoctonia solani* descrita por Membreño *et al* (2001). No se han encontrado *Rhizopus* y *Macrophomina* (Pachón y Castaño-Zapata, 1999 y Membreño *et al*, 2001) en nuestra región.

Con respecto a la presencia de *Lasiodiplodia theobromae* en semillas, según Sandoval (2008) menciona que afecta semillas y plántulas de *Plukenetia volubilis*, esto nos indica que este hongo tiene otros hospedantes en la región San Martín, tal es el caso que ataca mazorca de cacao. Muchos de estos hongos estudiados también fueron encontrados en semillas de maíz (Díaz 2005).

Estos patógenos por su medio de transporte (por semilla) se encontraron en las 8 localidades donde se realizó la colecta, especialmente en el ecotipo huasca poroto huallaguino que presentó más semillas enfermas como se aprecia en el cuadro 5, esto corrobora lo mencionado por Villalobos y Hernández (2007), Jara (2006) y CIAT (1987), que la semilla es el principal medio de dispersión de enfermedades a grandes distancias, incluyendo países y continentes. Según este cuadro se puede apreciar que el frejol Huasca Poroto Huallaguino es el más difundido en la selva peruana, seguido del frejol allpa y en tercer lugar el pajatino; estos dos últimos ecotipo al parecer están en peligro de extinción.

Los patógenos observados en las semillas de los diferentes ecotipos de frejoles comunes de la región San Martín son infectados o contaminados a nivel de campo agrícola; al no existir semilla certificada se convierten en un potencial importante para la diseminación a otros campos agrícolas o se convierten en fuente de inóculo en las nuevas campañas agrícolas, esto tiene relación cuando CIAT (1987) menciona que más de la mitad de las enfermedades mayores de frejol pueden ser transmitidos por semillas, similar a lo mencionado por Araya y Hernández (2006) y Martínez *et al* (2008) cuando indican que la reducción en la emergencia de la planta puede alcanzar el 15%.

En cuanto a las características morfológicas y colonización de cada uno de los patógenos encontrados en los aislamientos puros en medio Papa Dextrosa Agar - PDA al 2% glucosado y observaciones en el microscopio que se describieron basados en las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972), Ellis (1971 y 1976), Tousson y Nelson (1968), Hanlin (1990), Campos (1991), Díaz (2005) y Lucero *et al* (2009), nos reafirman la identificación de patógenos encontrados en semillas de *Phaseolus vulgaris* y así mismo que estos tienen otros hospederos como maíz (*Zea mays*) y Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) en la región San Martín. Según la clave de Phillips *et al* (2008) para las especies que pueden ser diferenciadas en base a la morfología de su conidia (especialmente dimensiones) y morfología de las parafisas corresponden al género *Lasioidiplodia theobromae*.

Los factores que pueden estar influenciando en la incidencia de las semillas serían el tiempo y tipo de almacenaje, las condiciones ambientales

de cada localidad como la temperatura y humedad relativa alta entre 80% – 100%, y probablemente las mezclas que hacen los comerciantes de frejoles almacenados de mucho periodo con las semillas del año, puesto que las semillas de frejoles colectados en San Roque de Cumbaza, Aucaloma, San Antonio de Cumbaza, San José de Sisa, Juan Guerra, Tingo de Ponaza, Saposoa y Juanjui fueron directamente del agricultor. Tal como menciona Madigan *et al* (2000) sobre los requerimientos de *Colletotrichum lindemuthianum*, mostrando que para favorecer la infección necesita temperatura óptima de 17°C, pero puede variar entre 13°C a 26°C con alta humedad relativa, este resultado tiene relación con lo afirmado por Latorre *et al* (2004) cuando sostiene que los suelos con 18°C favorecen el desarrollo de los hongos.

Estos hongos encontrados en granos de frejol, es probable que fueron infestados e infectados durante la cosecha y el almacenamiento, pero que no mostraron evidencias de signos cuando son almacenados en lugares ventilados a pesar de contener humedad entre 14 a 16% por la falta de presencia de agua libre; pero cuando se colocaron en las cámaras húmedas donde se le adicionó agua libre y tiene humedad relativa entre 90-100% han evidenciado su presencia efloreciendo las estructuras vegetativas como las hifas y los micelios, días después la formación de estructuras reproductivas en la mayoría de los hongos que produjeron conidias. Es así que cada uno de los hongos de granos de frejol tiene un límite de humedad y temperatura entre el mínimo y el máximo, bajo el cual no pueden crecer.

La humedad del ambiente y agua libre cumplen un papel importante en el crecimiento de los hongos de granos de frejoles.

Los hongos *Aspergillus* y *Penicillium* sobreviven con frecuencia en granos que tienen alto contenido de humedad, debido a que están con alta respiración, el cual emite calor que favorecen a estos hongos. Pero si los granos de frejol son separados y tienen buena aireación como ocurrió en la siembra de la prueba *in vitro* donde se observó que estos hongos no causaron daño alguno a los granos del frejol huasca poroto huallaguino.

6.2. Porcentaje de incidencia y grado de severidad en semillas de *Phaseolus vulgaris*, ecotipo huasca poroto huallaguino de la prueba de patogenicidad.

En base a los resultados obtenidos en el cuadro 5, donde se aprecia al ecotipo huasca poroto huallaguino como el más susceptible por presentar semillas enfermas en las 8 localidades de colecta, se decidió realizar la prueba de patogenicidad para determinar los patógenos de mayor importancia que están afectando a las semillas de *Phaseolus vulgaris*, encontrando que *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Colletotrichum lindemuthianum* presentan mayor porcentaje de incidencia y mayor grado de severidad (cuadro 10) según escala modificado de Castaño-Zapata (1989) y CIAT (1987) citado por Delgado (2011), bajo las condiciones de la Región San Martín estos patógenos están afectando a las semillas de *Phaseolus vulgaris*, por lo tanto serían los de mayor importancia.

Los hongos fitopatógenos mencionados anteriormente también fueron reportados por Alcoba *et al* (2005) encontrando *Lasiodiplodia theobromae* en

Phaseolus vulgaris, como también en *Arachis hypogaea*, *Gossypium hirsutum* y *Vitis vinífera*; del mismo modo Araya y Hernández (2006) y Martínez *et al* (2008), Latorre (2004) encontraron *Fusarium solani* y lo describen como un hongo que causa pérdidas en el rendimiento debido a que existe 15% de promedio de incidencia con respecto a la emergencia de las semillas, ya que la enfermedad sobrevive en restos de siembra y en la semilla. Así mismo Martínez *et al* (2008) menciona que se puede reducir la incidencia y severidad de la enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* sembrando a menor profundidad; finalmente Atilio y Reyes (2008) mencionan que *Colletotrichum lindemuthianum* es un hongo que ataca a las variedades más susceptibles, tal es el caso del ecotipo huasca poroto huallaguino que reportó mayor incidencia en todas las localidades; reforzando los resultados al describirlos como hongos que afectan a las semillas y planta de *Phaseolus vulgaris*. Los demás hongos causan pudrición de semillas por mal almacenaje y no afectan en la emergencia a pesar de ser inoculados debido a que es infestado el tegumento externo y no los cotiledones.

6.3. Incidencia *in vitro* de enfermedades en semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de incidencia en el control químico de *Lasiodiplodia theobromae* (cuadro 11 y gráfico 1), nos muestran que el tratamiento T6 (Metalaxil + Mancozeb) a dosis de 2,5 g/kg de semilla de *Phaseolus vulgaris*, el cual es un fungicida compuesto (protector-sistémico) (cuadro 1), reportó menor promedio de porcentaje de incidencia siendo 17,50% calificado como bueno (cuadro 16), pero a la vez es estadísticamente

igual al tratamiento T5 (Mancozeb - protectante), tratamiento T4 (Propineb - protectante) y tratamiento T3 (Tolclofos metil + Thiram - compuesto), por lo tanto estos fungicidas controlan el ataque del hongo cuando no está dentro de la semilla protegiendo la parte externa como lo menciona Adrianzen (1996) al describir a los fungicidas protectantes. Estos resultados también corroboran lo mencionado por Tovar *et al* (2013) y Aroca *et al* (2008) quienes al aplicar Mancozeb (0,15%) lograron controlar de forma eficaz hongos como *Lasiodiplodia theobromae*; así mismo Sandoval (2008) aplicando Mancozeb logró excelentes resultados, es decir ninguna planta afectada. En este estudio se logró buenos resultados (10% - 30% de planta afectada) para el control de *Lasiodiplodia theobromae* con la aplicación de Mancozeb (T5) combinado con otro fungicida Metalaxil + Mancozeb (T6), este último fue utilizado por Sandoval (2008) para el control de este patógeno en semillas de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) teniendo muy buenos resultados; no sucediendo lo mismo con Benomyl (T7) el cual se obtuvo regular resultado (30% - 60% de planta afectada) debido a que el fungicida es de acción sistémica y es probable que no haya actuado durante la emergencia de la semilla porque no alcanzó la tubulina a tiempo y además la dosis que se utilizó fue de concentración baja, ya que este fungicida es recomendado de 0,75 g/kg, 1,0 g/kg, y 1,5 g/kg de semilla; mientras que Sandoval (2008) utilizando dosis de 0,75 g/kg obtuvo muy buenos resultados.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de incidencia en el control químico de *Rhizoctonia solani* (cuadro 12 y gráfico 2) nos muestran que el tratamiento T4 (Propineb) a dosis de 3 g/kg de semilla de *Phaseolus vulgaris*,

el cual es un fungicida de protección (cuadro 1), reportó menor promedio de porcentaje de incidencia siendo 7,50% calificado como muy bueno (cuadro 16), por lo tanto este fungicida controla el ataque del hongo cuando no está dentro de la semilla protegiendo la parte externa como lo menciona Adrianzen (1996) al describir a los fungicidas protectantes. Estos resultados también tienen relación con lo mencionado por Díaz (2005), que con la aplicación de Propineb logró controlar en forma eficaz *Rhizoctonia solani* en semillas de maíz (*Zea mays*) de la variedad Marginal 28-Tropical en condiciones de laboratorio como se desarrolló en el presente estudio, por lo tanto este fungicida puede ser utilizado para controlar este patógeno en semillas de *Phaseolus vulgaris* en condiciones de San Martín.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de incidencia en el control químico de *Fusarium solani* en laboratorio (cuadro 13 y gráfico 3), nos muestran que el menor promedio de incidencia se obtuvo con el tratamiento T3 (Tolclofos metil + Thiram) a dosis de 2 g/kg de semilla de *Phaseolus vulgaris*, el cual es un fungicida compuesto (protector-sistémico) (cuadro 1), siendo este resultado de 22,50% calificado como bueno (cuadro 16), por lo tanto este fungicida controla el ataque del hongo cuando no está dentro de la semilla protegiendo la parte externa como lo menciona Adrianzen (1996) al describir a los fungicidas protectantes. Estos resultados son corroborados por Adrianzen, (1996), CIAT (1987) y FAO, (2000), que mencionan que el fungicida Thiram es protectante para el control de enfermedades en semillas como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, entre otros, esto debido a que el modo de acción de estos fungicidas generalmente es de multisitio, un proceso bajo

control multigénico, ya que actúan en diferentes procesos metabólicos vitales para la vida del hongo, por lo que la probabilidad de obtener resistencia del hongo a estos fungicidas es bastante baja.

En general, los fungicidas protectantes afectan el metabolismo de las proteínas, bloquean la oxidación de ácidos grasos, afectan la producción de energía/ATP y bloquean la enzima deshidrogenasa como lo describe Yaringaño, (1985). Estudios realizados en San Martín por Díaz (2005) y Sandoval (2008), reafirman este resultado en semillas de *Phaseolus vulgaris*, mencionando que el uso de fungicidas que contiene Thiram lograron controlar a *Fusarium solani* de manera excelente en semillas de *Plukenetia volubilis* y *Zea Mays* en laboratorio bajo las mismas condiciones en que se desarrolló el presente estudio.

Los resultados obtenidos en el porcentaje de incidencia en el control químico de *Colletotrichum lindemuthianum* en laboratorio (cuadro 14 y gráfico 4), nos muestran que el menor promedio de incidencia se obtuvo con el tratamiento T4 (Propineb - protectante) a dosis de 2 g/kg de semilla de *Phaseolus vulgaris*, siendo este resultado de 32,50% calificado como regular (cuadro 16), por lo tanto este fungicida redujo el ataque del hongo pero no logra resultados satisfactorios, al ser de protección estaría controlando al hongo cuando no está dentro de la semilla protegiendo la parte externa como lo menciona Adrianzen (1996) al describir a los fungicidas protectantes.

Estos resultados nos indican que los fungicidas ensayados no tienen efecto fúngico ante el hongo estudiado, por lo que es necesario buscar

nuevas alternativas de control bajo las mismas condiciones en que se desarrolló la investigación.

6.4. Porcentaje de emergencia en semillas de *Phaseolus vulgaris* con tratamiento fungicida.

Los resultados obtenidos en el gráfico 5 que muestran mejor porcentaje de emergencia en semillas de *Phaseolus vulgaris* del ecotipo huasca poroto huallaguino fueron: Propineb (77,5%) a la dosis 3 g/kg, Tolclofos metil + Thiram (76,25%) a la dosis 2 g/kg y Metalaxil + Mancozeb (71,88%) a la dosis 2,5 g/kg, siendo las medias superiores al 70% con respecto al tratamiento Testigo con inoculación de hongos (63,13%) y Mancozeb (66,25%) a la dosis 3 g/kg.

Mientras que el fungicida Benomyl a la dosis 0,75 g/kg tuvo menor porcentaje de emergencia teniendo como promedio 52,5%, esto debido a efectos fitotóxicos y la presencia de patógenos que están afectando a las semillas. Similares resultados fueron encontrados por Díaz (2005) en semillas de maíz (*Zea mays*) observándose porcentajes del 77,00% para Propineb a la dosis 2 g/kg, 79,04% para Mancozeb a la dosis 3 g/kg, 79,32% para Benomyl a la dosis 1 g/kg, y 77,06 % para el Testigo, esto indica que el uso de fungicidas en el tratamiento de semillas de maíz con las dosis empleadas no influenciaron de manera fitotóxica en la emergencia de éstas.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1. Los hongos aislados e identificados presentes en las semillas de frejol en las localidades de la región San Martín fueron: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* y *Penicillium* sp.
- 7.2. La prueba de patogenicidad realizado a los hongos encontrados determinaron que: *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* y *Colletotrichum lindemuthianum* son patógenos de semillas de frejol en San Martín que se pueden diseminar a campos de cultivos.
- 7.3. El hongo *Lasiodiplodia theobromae* es un nuevo agente de chupadera fungosa de alto riesgo patológico en frejoles.
- 7.4. La prueba del control químico *in vitro* determinó que el fungicida Propineb tuvo menor incidencia de la enfermedad, controló de forma muy buena al hongo *Rhizoctonia solani*.
- 7.5. Los fungicidas Metalaxil + Mancozeb y Tolclofos metil + Thiram para los hongos *Lasiodiplodia theobromae* y *Fusarium solani* respectivamente, permitieron la baja incidencia de la enfermedad demostrando así su buen efecto de control.

VIII. RECOMENDACIONES

Considerando que existen hongos que pudren las semillas, y muchos de estos se diseminan en la región por este medio y al no existir semilla certificado se recomienda:

- 8.1. Seleccionar las semillas sanas para erradicar las enfermas, de tal manera que se disminuya la fuente de inóculo para evitar epidemias en campo.
- 8.2. Considerar como nuevo agente de chupadera fungosa a *Lasiodiplodia theobromae*.
- 8.3. Aplicar el fungicida Propineb a la dosis 3 g/kg para el control de *Rhizoctonia solani*, los fungicidas Metalaxil + Mancozeb a la dosis 2,5 g/kg y Tolclofos metil + Thiram a la dosis 2 g/kg para controlar *Lasiodiplodia theobromae* y *Fusarium solani* respectivamente.
- 8.4. Finalmente se recomienda investigar temas referentes a control biológico, control cultural y control con extractos vegetales en semillas de frejol como buenas prácticas agrícolas para la agricultura sostenible.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adrianzen, R. (1996). *Vademécum Agrario 1995/1996: Ingeniero Agrónomo*. Editorial. Prensa. Impreso en Lima – Perú. Pág. 768.
2. Ainsworth, G. C. (1991). *Manual para Patólogos Vegetales*. Commonwealth Agricultural Bureaux, 1968. London.
3. Alcoba, N. J., Bejarano, N., Catacata, J. R. (2005). *Enfermedades de los cultivos de Jujuy y Salta - Diagnosticadas en el laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Ciencias Agrarias*. 74 pp.
4. Apablaza, G. (1997). *Patología de Cultivos. Epidemiología y Control Holístico. Colección en Agricultura. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal*. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. Pág. 283-305.
5. Araya, C. M. (2000). “*Estatus de las principales enfermedades del cultivo de frijol, y posibilidades organizativas para su manejo integrado en Costa Rica. Experiencias de Producción Sostenible en los Países*”. En: Revista Manejo Integrado de Plagas, No. 55. pp. 6-11.
6. Araya, C. M. y Hernández, J. C. (2006). *Guía para la identificación de las enfermedades del frijol más comunes en Costa Rica*. Ministerio Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica. Pág.37.
7. Arias, J. H., Jaramillo, M., Rengifo, T. (2007). *Manual Técnico: Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) en la producción de frijol voluble*. CORPOICA - MANA- FAO. C.I. La Selva. Medellín.

8. Aroca, A., Raposo, R., Gramaje, D., Armengol, J., Martos, S., Luque, J. (2008). *First report of Lasiodiplodia theobromae on rootstocks mother grapevines in Spain*. Plant Dis. 92:832.
9. Atilio, C., y Reyes, C. (2008). *Guía técnica del frijol*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. 24 pp.
10. Barnett, H. L. y Hunter, B. B. (1972). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Third Edition. Printed in The United States of America. Miniospolia Minnesota –USA. pp 241.
11. Campos, J. (1991). *Enfermedades del frijol*. México: Trillas.
12. Castaño-Zapata, J. (1989). *Estandarización de la estimación de daños causados por hongos, bacterias y nemátodos en frijol (Phaseolus vulgaris L.)*. Fitopatología Colombiana. Vol. 13 (1): 9-19.
13. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT. (1994). *Programa de frijol, Informe Anual*. Cali, Colombia.
14. Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT. (1987). *Standard system for the evaluation of bean germplasm*. Van Schoonoven, A. and Pastor-Corrales, M. A. (compilers). Cali, Colombia. 54 pp.
15. Cruz, J., Camarena, F., Pierre, J., Huaranga, A., Blas, R. (2009). *Evaluación agromorfológica y caracterización molecular de la Ñuña (Phaseolus vulgaris L.)*. Revista IDESIA (Chile), Volumen 27. 29-40.
16. Danilo, N. (2009). *El cultivo del Frijol*. Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria, Tegucigalpa, M.D.C., Honduras C.A.

17. Delgado, M. A. (2011). *“Manejo Integrado de Enfermedades de los Principales Cultivos de Exportación”*. APF - ALF. Curso Pre-Congreso Peruano y Latinoamericano de Fitopatología. Universidad Pedro Ruíz Gallo. Diapositiva N° 31. Lambayeque.
18. Díaz, H. (2005). *“Identificación y control in vitro de enfermedades fungosas en semillas de maíz (Zea mays), en el laboratorio de sanidad vegetal de la UNSM.”*
19. Díaz, V. (2002). *Principales enfermedades del frijol ejotero (Phaseolus vulgaris L.) en las principales regiones productoras del estado de Morelos. Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental “Zacatepec” Zacatepec, Morelos, México 75 pp.*
20. Ellis, M. B. (1971). *More Dematiaceous Hyphomycetes*. C.A.B. International Mycological Institute Kew, Surrey, England. 507 pp.
21. Ellis, M. B. (1976). *More Dematiaceous Hyphomycetes*. C.A.B. International Mycological Institute, Kew Surrey, England. 507 pp.
22. Food Agriculture Organization. (2000). *El código internacional de la FAO sobre la distribución y utilización de pesticidas*.
23. Hanlin, R. T. (1990). *Illustrated Genera of Ascomycetes*. APS PRESS. The American Phytopathological Society. Second Printing. Printed Minnesota in United States of America. Pág. 263.
24. Jara, C. (2006). *Programa de Fitopatología del Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)*, Cali, Colombia. 42 pp.

25. Latorre, B. (2004). *Enfermedades de las plantas cultivadas*. Sexta edición. Ediciones Universidad Católica de Chile.
26. Lucero, G., Cucchi, N. J. A., Pizzuolo, P., Gómez, S. (2009). *Enfermedades: Hongos (Algas), Bacterias y Virus - En: Manual de Tratamientos Fitosanitarios para cultivos de clima templado bajo riego*. Sección III: Vid - Tomo I. - Editor/es: Becerra, V. C.; Cucchi, N. J. A. - Centro Regional Mendoza - San Juan INTA. 364 pp.
27. Madigan M. T., Martinko J. M., Parker J. (2000). *Brock Biología de los microorganismos*. Octava edición. Prentice Hall Iberia. Madrid; 155 pp.
28. Martínez, M. A., Osuna, E. S., Padilla, J. S., Acosta, J. A., Loredó, C. (2008). *Tecnología para la producción de frijol en el Norte Centro de México*. Libro Técnico N° 4. Campo Experimental San Luis - INIFAP. 206 pp.
29. Membreño, J., Zapata, M., Beaver, J. & Smith, R. (2001). "*Microflora en semillas de frijol (Phaseolus vulgaris L.)*". En: *Agronomía Mesoamericana*, 12 (2). pp. 135-139.
30. Micro Red Centro de Salud Morales (2016). *Programa PANTBC. Archivo del Área de Nutrición*.
31. Pachón, C. E. & Castaño-Zapata, J. (1999). "*Identificación de hongos en semillas almacenadas de maíz y frijol*". En: Boletín FITOTECNIA, No. 23. Departamento de Fitotecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Manizales.
32. Phillips, A. J. L., Alves, A., Abdollahzadeh, J., Sleppes, B., Wingeld, M. J., Groenewald, J. Z. y PW, Crous (2008). *The Botryosphaera*. Publicado en línea el 30 de setiembre del 2013. Doi 103114/Sin 0021

33. Programa Nacional de Asistencia Alimentaria – PRONAA (2011). *Licitaciones de Alimentos*.
34. Sandoval, R. (2008). *“Identificación y control in vitro de enfermedades fungosas en semillas de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.), en San Martín.”* Tesis de Ingeniero Agrónomo. 75 pp.
35. Santana, G. E. y Mahuku, G. (2002). *“Diversidad de razas de Colletotrichum lindemuthianum en Antioquía y evaluación de germoplasma de frijol crema-rojo por resistencia a antracnosis”*. En: *Agronomía Mesoamericana*, 13 (2). pp. 95-103.
36. Stack, J. (2001). *Grain Molds and Mycotoxins in Corn*. University of Nebraska Cooperative Extension educational - The U.S. Department of Agriculture.
37. Tamayo, P. y Londoño, M. (2001). *Manejo Integrado de las Enfermedades y Plagas del Fríjol. Manual de campo para su reconocimiento y control*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Corpoica, Centro de Investigación La Selva, Rionegro, Antioquia (Colombia). Boletín Técnico N° 10. 84 pp.
38. Tousson, T. A. and Nelson, P. E. (1968). *Fusarium: Disease, Biology and Taxonomy*. The Pennsylvania State University. University Press, Printed in the United States of America. 51 pp.
39. Tovar, J. M., Mora, J. A., Nava, C., Téliz, D., Villegas, Á., & Leyva, S. G. (2013). *Control of Lasiodiplodia theobromae, the causal agent of dieback of sapote mamey [Pouteria sapota (Jacq.) H. E. Moore and Stearn] grafts in México*. *Revista fitotecnia mexicana*, 36(3), 233-238.

Recuperado en 28 de octubre de 2015, de
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-738020130003000007&lng=es&tlng=en.

40. Vallone, S., Salines, L. y Masiero, E. (2002). *Ensayos de fungicidas foliares para el control de enfermedades de fin de campaña 2001/2002*.
41. Van der Plank, J. E. (1975). *Principles of plant infection*. Academic Press New York. 150 pp.
42. Villalobos, R. y Hernández, J. (2007). *Protocolo para la producción local de semillas de frijol. Estación Experimental Fabio Baudrith Moreno, Alajuela, Costa Rica*. 44 pp.
43. Voysest, O. (2000). *Mejoramiento Genético del fríjol (Phaseolus vulgaris L.): Legado de variedades de América Latina 1930-1999*. Centro Internacional de Agricultura Tropical. CIAT. Cali (Colombia). 195 pp.
44. Yaringaño, M. C. (1985). *Control Químico del ojo de Sapo del Tabaco Negro en Almaciguera y Campo definitivo*. Boletín técnico. E.E.A. "El Porvenir". San Martín – Perú. Pág. 23.

ANEXOS

ANEXO 1: Costos de Identificación y Análisis.

Rubros	Unidad	Cantidad	Costo Unitario S/.	Costo S/.
Identificación	Unidad	1	50	50
Agar Agar	Kg	0.1	320	32
Glucosa	Kg	0.1	200	20
Papas	Kg	0.25	2	0.5
Agua destilada	l	1	10	10
Algodón	g	1	3	3
Lejía	l	1	8	8
Alcohol	l	0.5	10	5
Papel	Rollos	2	4	8
Regla	Unidad	1	2	2
Antibiótico	Cápsula	2	1.5	3
Mano calificada	Unidad	1	150	150
TOTAL COSTO				291.5

ANEXO 2: Datos originales del porcentaje de incidencia de enfermedades con tratamientos fúngicos.

			<i>Lasiodiplodia theobromae</i>		<i>Fusarium solani</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	
Fungicidas	T	P	Incidencia		Incidencia		Incidencia		Incidencia	
			I	%	I	%	I	%	I	%
Tto. sin inoculación de hongos	1	1	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	1	2	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	1	3	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
	1	4	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00
Tto. con inoculación de hongos	2	1	3	30.00	5	50.00	4	40.00	4	40.00
	2	2	5	50.00	4	40.00	4	40.00	4	40.00
	2	3	5	50.00	4	40.00	5	50.00	3	30.00
	2	4	4	40.00	3	30.00	5	50.00	5	50.00
Tolclofos Methil 30% + Thiram 30%	3	1	2	20.00	2	20.00	2	20.00	5	50.00
	3	2	3	30.00	3	30.00	1	10.00	5	50.00
	3	3	3	30.00	2	20.00	2	20.00	6	60.00
	3	4	2	20.00	2	20.00	1	10.00	4	40.00
Propineb 70%	4	1	2	20.00	5	50.00	1	10.00	3	30.00
	4	2	3	30.00	4	40.00	1	10.00	3	30.00
	4	3	2	20.00	5	50.00	1	10.00	4	40.00
	4	4	3	30.00	4	40.00	0	0.00	3	30.00
Mancozeb 80%	5	1	3	30.00	5	50.00	3	30.00	5	50.00
	5	2	2	20.00	4	40.00	4	40.00	5	50.00
	5	3	3	30.00	5	50.00	2	20.00	4	40.00
	5	4	2	20.00	5	50.00	3	30.00	4	40.00
Metalaxil 4% + Mancozeb 64%	6	1	2	20.00	6	60.00	1	10.00	5	50.00
	6	2	1	10.00	4	40.00	2	20.00	5	50.00
	6	3	2	20.00	5	50.00	2	20.00	4	40.00
	6	4	2	20.00	4	40.00	3	30.00	5	50.00
Benomyl 50%	7	1	4	40.00	5	50.00	4	40.00	5	50.00
	7	2	4	40.00	5	50.00	4	40.00	5	50.00
	7	3	3	30.00	6	60.00	5	50.00	5	50.00
	7	4	5	50.00	6	60.00	5	50.00	4	40.00

*T: Tratamientos

*P: Pruebas

ANEXO 3: Porcentaje de emergencia de la semilla de frejol con tratamientos fúngicos.

			<i>Lasiodiplodia theobromae</i>		<i>Fusarium solani</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>	
Fungicidas	T	P	E	%E	E	%E	E	%E	E	%E
Tto. sin inoculación de hongos	1	1	10	100.00	7	100.00	9	100.00	9	100.00
	1	2	10	100.00	7	100.00	9	100.00	6	100.00
	1	3	10	100.00	9	100.00	10	100.00	6	100.00
	1	4	10	100.00	9	100.00	9	100.00	7	100.00
Tto. con inoculación de hongos	2	1	8	80.00	3	30.00	6	60.00	10	100.00
	2	2	6	60.00	7	70.00	7	70.00	5	50.00
	2	3	6	60.00	10	100.00	5	50.00	8	80.00
	2	4	7	70.00	8	80.00	4	40.00	1	10.00
Tolclofos Methil 30% + Thiram 30%	3	1	9	90.00	9	90.00	7	70.00	5	50.00
	3	2	8	80.00	8	80.00	9	90.00	2	20.00
	3	3	8	80.00	9	90.00	8	80.00	4	40.00
	3	4	9	90.00	9	90.00	10	100.00	8	80.00
Propineb 70%	4	1	9	90.00	5	50.00	9	90.00	7	70.00
	4	2	8	80.00	7	70.00	9	90.00	9	90.00
	4	3	9	90.00	5	50.00	9	90.00	3	30.00
	4	4	8	80.00	9	90.00	10	100.00	8	80.00
Mancozeb 80%	5	1	8	80.00	6	60.00	9	90.00	2	20.00
	5	2	9	100.00	9	90.00	4	40.00	4	40.00
	5	3	6	60.00	4	40.00	8	80.00	6	60.00
	5	4	9	90.00	6	60.00	7	70.00	8	80.00
Metalaxil 4% + Mancozeb 64%	6	1	9	90.00	5	50.00	9	90.00	9	90.00
	6	2	10	100.00	4	40.00	8	80.00	2	20.00
	6	3	9	90.00	6	60.00	8	80.00	7	70.00
	6	4	9	90.00	10	100.00	7	70.00	3	30.00
Benomyl 50%	7	1	5	50.00	5	50.00	7	70.00	6	60.00
	7	2	10	100.00	4	40.00	8	80.00	4	40.00
	7	3	8	80.00	2	20.00	1	10.00	5	50.00
	7	4	5	50.00	5	50.00	5	50.00	4	40.00

*T: Tratamientos

*E: Emergencia

*P: Pruebas

*%E: Porcentaje de Emergencia